

Synthese nicht-peptidischer Plasmepsin II- und IV-Inhibitoren



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Pharmazie der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Nan-Si Brass

aus

Schlüchtern

Marburg/Lahn 2010

Vom Fachbereich Pharmazie der Philipps-Universität Marburg
als Dissertation angenommen am:

22.02.2010

Erstgutachter: Jun. - Prof. Dr. W. E. Diederich
Zweitgutachter: Prof. Dr. G. Klebe

Tag der mündlichen Prüfung am:

23.02.2010

Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden auf Anregung von Frau Jun.-Prof. Dr. Wibke E. Diederich am Institut für Pharmazeutische Chemie des Fachbereichs Pharmazie der Philipps-Universität Marburg in der Zeit von November 2005 bis Dezember 2009 durchgeführt.

INHALTSVERZEICHNIS:

1.	Einleitung	1
1.1.	Pathogenese der Malaria	2
1.2.	Der Hämoglobinabbau als Target	4
1.3.	Plasmeptine als molekulares Target	7
1.3.1.	Plasmeptin-Inhibitoren	9
1.3.2.	Kristallstrukturen von Plasmeptin II	13
2.	Aufgabenstellung	15
3.	Synthese 3,5-disubstituierter nicht-peptidischer Plasmeptin II- und IV-Inhibitoren	19
3.1.	Synthese und biologische Testung der aus dem ersten Design-Zyklus hervorgegangenen Verbindungen	25
3.2.	Trennung der Enantiomeren	35
3.3.	Zusammenfassung	35
4.	Synthese 3,5-disubstituierter-Tetrahydro-1<i>H</i>-azepin-Derivate mit verkürztem Akzeptor-Abstand	37
4.1.	Auswahl eines geeigneten Synthesesythons	41
4.2.	Retrosynthese der Grundstruktur	44
4.3.	Darstellung der zentralen Synthesezwischenstufe	46
4.4.	Darstellung der Inhibitoren mit verkürztem Carbonyl-Abstand	51
4.5.	Biologische Daten und Bewertungen	54

5.	Synthese dreiarmer Plasmepsin-Inhibitoren basierend auf 3,5-disubstituierten-Tetrahydro-1<i>H</i>-azepin-Derivaten	55
5.1.	Synthese dreiarmer Inhibitoren mit verkürztem Carbonyl-Abstand	59
5.2.	Synthese dreiarmer Azepin-Inhibitoren mit längerem Akzeptor-Abstand	61
5.3.	Biologische Bewertung	63
5.4.	Röntgenstrukturanalyse in der Aspartyl-Protease Endothiapepsin	65
5.5.	Interpretation und Bewertung der Kristallstruktur	68
6.	Zusammenfassung	69
7.	Experimenteller Teil	76
7.1.	Abbreviations	76
7.2.	General	77
7.3.	Experimental procedures and data of the synthesized compounds	80
8.	Literaturverzeichnis	181
9.	Anhang	185
9.1.	Erklärung	185
9.2.	Veröffentlichungen	186
9.3.	Danksagung	187
9.4.	Lebenslauf	189

Theoretischer Teil

1. Einleitung

Trotz des medizinischen Fortschrittes seit Mitte des 20. Jahrhunderts, stellen Infektionskrankheiten die Menschheit noch immer vor ungelöste medizinische und gesundheitspolitische Probleme. In diesem Zusammenhang sind vor allem die Tuberkulose, die Infektion mit dem HI-Virus und die Malaria zu erwähnen, wobei an der Pathogenese der beiden zuletzt genannten Erkrankungen bzw. Infektionen Aspartat-Proteasen eine entscheidende Rolle spielen. Die Malaria tritt vor allem in den Gebieten der Tropen und zum Teil auch in den Subtropen auf und löst jährlich ca. 190-330 Millionen Krankheitsfälle aus, wobei 0,6 bis 1,2 Millionen (Stand: 2006) dieser Fälle tödlich verlaufen. 88% der Todesfälle sind Kinder in Afrika unter 5 Jahren.^{1,2} Weltweit nimmt die Anzahl der Malariafälle weiter zu, wobei im Bezug auf die Anzahl der Krankheitsfälle vor allem in den Entwicklungsländern wahrscheinlich eine nicht unerhebliche Dunkelziffer angenommen werden muss. In den Jahren von 1970 bis 1997 wird die Zunahme der Infektionsrate im subtropischen und tropischen Afrika, die die am stärksten betroffenen Regionen dieser Welt sind, auf ca. 40% geschätzt.³ Insgesamt bevölkern etwa 3,3 Milliarden Menschen Gebiete in denen Malaria endemisch vorkommt.¹

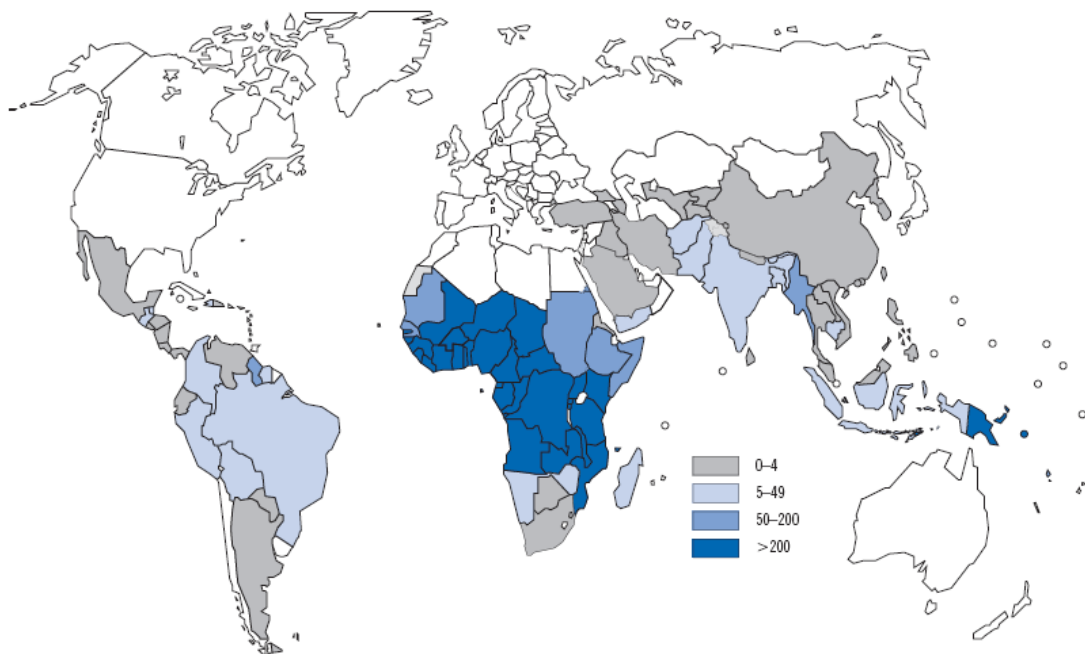


Abbildung 1: Geschätztes Auftreten der Malaria pro 1000 Einwohner, 2006.¹

¹ WHO, *World Malaria Report* 2008.

² Snow, R.W., Craig, M. et al., *Bull. WHO* 1999, 77, 624-640.

³ Laurent, C., Bourgeois, A. et al., *Emerg. Inf. Dis.* 2004, 10, 1953-1956.

In den letzten Jahrzehnten hat sich die Lage in vielen Teilen der Welt weiter verschärft. Der Hauptgrund hierfür ist die dramatische Zunahme der Resistenzen des Parasiten gegen etablierte Malariamittel wie Chloroquin⁴ und Sulphadoxin/Pyrimethamin.⁵ Es sind vor allem die mittlerweile auftretenden so genannten multi-drug resistenten Parasiten, deren Verbreitung die Therapie der Erkrankung erschwert oder sogar unmöglich macht.⁶ Zudem könnte die globale Erwärmung die weitere Ausdehnung der Malaria in Gebiete, die bisher noch nicht von dieser Krankheit betroffen waren, begünstigen.⁷ Die Entwicklung eines Malaria-Impfstoffes, die Suche nach Wirkstoffen mit neuen Wirkungsmechanismen und die Aufklärung der für die Resistenzbildung verantwortlichen Mechanismen spielen im Zuge der von der WHO ins Leben gerufenen Anti-Malaria-Initiative „roll-back-malaria“ eine Hauptrolle.⁸

1.1. Pathogenese der Malaria

Hervorgerufen wird Malaria durch Protozoen der Gattung *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. falciparum* sowie auch mit *P. knowlesi*), die durch den Stich der weiblichen Anophelesmücke übertragen werden. Infektionen mit *P. falciparum* sind am häufigsten und verantwortlich für nahezu alle Malaria bedingten Todesfälle. Der Vermehrungszyklus der Plasmodien kann in zwei Phasen, eine „asexuelle“ und eine „sexuelle Phase“ untergliedert werden. Die geschlechtliche Entwicklung und Vermehrung der Plasmodien findet in der Anophelesmücke statt, der ungeschlechtliche Vermehrungszyklus im Menschen.⁹

Der ungeschlechtliche Vermehrungszyklus im Menschen beginnt mit dem Stich einer durchseuchten weiblichen Anophelesmücke, wodurch Sporozoiten zunächst in die Blutbahn des menschlichen Wirts gelangen, welche dann die Zellen des Lebergewebes befallen. In der Leber findet zunächst eine exoerythrozytäre Schizogonie statt, wobei Merozoiten entstehen. Das Heranreifen der Leberschizonten führt letztendlich zum Platzen der befallenen Zellen und die Merozoiten werden in die Blutbahn entlassen. Bei *Plasmodium vivax* und *Plasmodium ovale* kommt zudem ein Hypnozoit-Stadium vor, während dessen sich die ungeteilten Hypnozoiten in einem Ruhestadium befinden und in dieser „Ruheform“ für Wochen bis über mehrere Jahre in der Leber verbleiben können. Das Heranreifen dieser Hypnozoiten zu

⁴ Wellems, T., Plowe, C., *J. Infect. Dis.* **2001**, 184, 770-776.

⁵ Wongsrichanalai, Ch., Pickard, A.L. et al., *The Lancet Infect. Dis.* **2002**, 2, 209-218.

⁶ Greenwood, B., Mutabingwa, T., *Nature* **2002**, 415, 670-672.

⁷ Stone, R., *Science* **1995**, 267, 957-958.

⁸ <http://www.rollbackmalaria.org/>; **2009**.

⁹ Khan, S., Waters, A.P., *Trends in Parasitology* **2004**, 20, 575-580.

Schizonten und schließlich zu Merozoiten ist für die typischen Rückfälle der Malaria verantwortlich.

Nach dieser „Leberphase“, welche 2-15 Tage andauern kann, folgt die Phase im Blutkreislauf des Menschen (erythrozytäre Schizogonie, Dauer 24-72 Stunden). Nach Eindringen der Merozoiten in die Blutbahn werden die roten Blutkörperchen befallen und wachsen dort zu Ringformen heran, welche zu Trophozoiten reifen. Diese können sich zu Schizonten umwandeln, wiederum aufplatzen und erneut Merozoiten freisetzen. Diese Blutstadien bewirken die klinische Manifestation der Malariasymptome, wie z. B. rhythmisch auftretende Fieberanfälle, die je nach Erreger unterschiedlich lange dauern. Die Fieberschübe treten bei den verschiedenen Formen der Malaria wie folgt auf:

- Malaria tertiana (*P. vivax* und *P. ovale*): alle 48 Stunden
- Malaria quartana (*P. malariae*): alle 72 Stunden
- Malaria tropica (*P. falciparum*): unregelmäßig¹⁰

Obwohl vier verschiedene Malariaparasiten vorkommen, die den Menschen infizieren und eine Malaria verursachen können, ist nur die Malaria tropica (*P. falciparum*) potentiell lebensbedrohlich. Die anderen Malariaformen wie Malaria tertiana und Malaria quartana sind nicht lebensbedrohlich.

Einige der Merozoiten wandeln sich zu Geschlechtsformen (Gametozyten) um, welche in weibliche (Makrogametozyten) und männliche (Mikrogametozyten) unterschieden werden. Die Anopheles-Mücke nimmt diese bei ihrer erneuten Blutmahlzeit mit auf, wodurch nun der geschlechtliche Entwicklungszyklus in der Mücke beginnt. Diese Makrogametozyten und Mikrogametozyten entwickeln sich im Darm der Mücke zu Gameten. Durch Penetration von Mikrogamet in Makrogamet entsteht eine Zygote, welche sich über Ookinet, Oozyste bis letztendlich zum Sporozoit entwickelt. Auf diese Zwischenschritte soll hier im Detail nicht näher eingegangen werden.

Dieser sexuelle Zyklus kann im Endwirt je nach Außentemperatur zwischen 8 und 16 Tagen dauern, wobei eine Mindesttemperatur von 15°C notwendig ist. Die Injizierung von Sporozoiten in einen neuen menschlichen Zwischenwirt schließt den Lebenszyklus des Parasiten.

¹⁰ Wiesner, J., Schlitzer, M., *Angew. Chemie.* **2003**, *115*, 5432-5451.

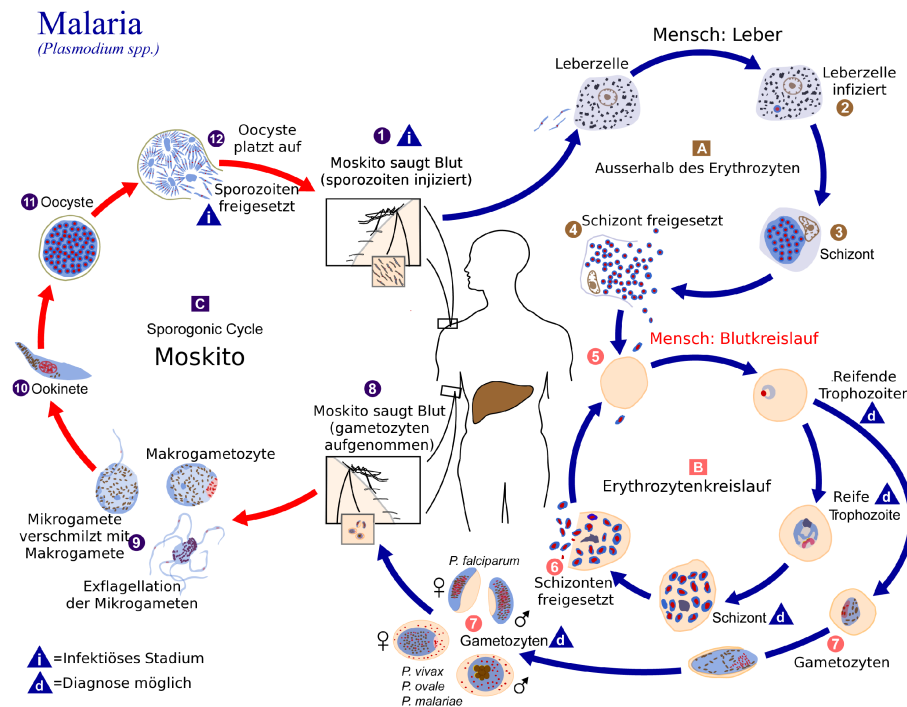


Abbildung 2: Lebenszyklus des Malariaparasiten.¹¹

1.2. Der Hämoglobinabbau als Target

Im Zuge der Aufklärung des Genoms von *Plasmodium falciparum* im Jahr 2002 wurden 92 mutmaßliche Proteasen entdeckt. In der Folge wurden diese auf ihre Eignung als mögliche Anti-Malaria Drug Targets untersucht. Die Merops-Datenbank führt 85 unterschiedliche Proteasen auf.^{12,13} In der Datenbank des metabolischen Pfades des Malaria-Parasiten¹⁴ werden dagegen mehr als 100 Proteasen aufgelistet, welche zu über 40 Familien der 5 katalytischen Klassen gehören. Für einige dieser Proteasen ist ihre Rolle, die ihnen beim Eindringen in die Wirtszelle oder bei der Freisetzung des Parasiten aus der Wirtszelle sowie beim Hämoglobin-Katabolismus zukommt, geklärt oder ihre Beteiligung an diesen Prozessen wird vermutet. Für eine Vielzahl der im Genom von *P. falciparum* codierten Proteasen ist ihre Funktion jedoch noch völlig ungeklärt.

Während seines Lebenszyklus baut *P. falciparum* das Hämoglobin der Wirtszelle in einem gesonderten Organell, der so genannten Nahrungsvakuole, ab, um seinen Energie- und Stoff-

¹¹ Parasite Image Library: http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/ImageLibrary/Malaria_il.htm; **2009**.

¹² The Peptidase Database: <http://merops.sanger.ac.uk/>; **2009**.

¹³ Rawlings, N.D. et al., *MEROPS: the peptidase database*. *Nucleic Acids Res.* **2008**, 36, D320-D325.

¹⁴ Malaria parasite metabolic pathways: <http://sites.huji.ac.il/malaria/>; **2009**.

wechselbedarf zu decken, aus Gründen der osmotischen Stabilität oder einfach nur um seinem Platzbedarf im Erythrozyten Rechnung zu tragen. Es wurde sehr früh gezeigt, dass eine Hemmung dieses Stoffwechselweges für den Parasiten tödlich ist. An diesem sehr komplexen Stoffwechselweg sind eine Reihe proteolytischer Enzyme unterschiedlicher Familien beteiligt: Aspartyl-Proteasen (Plasmeypsin (Plm) I, II, IV und die nahe verwandte Histo-Aspartyl-Protease (HAP)),^{15,16,17,18,19} Cystein-Proteasen (Falcipain -2, -2' und -3),^{20,21} die Metallo-Protease (Falcilysin)²² und Dipeptidyl Aminopeptidase 1 (DPAP1),²³ eine Cystein-Protease. Der endgültige Abbau der resultierenden Peptide ist dann höchstwahrscheinlich durch eine oder mehrere Aminopeptidasen im Cytosol möglich. Das bei dem Abbau entstehende freie toxische Häm wird durch Polymerisation und Ablagerung in Form einer inerten kristallinen Substanz, dem Hämozoin, entgiftet.

Bislang wurden 10 Plasmeypsine im Genom von *P. falciparum* identifiziert. Plm I, II, IV, V, IX, X und HAP werden während der erythrozytären Phase des Parasiten exprimiert. Es konnte gezeigt werden, dass die Plasmeypsine I, II, IV und HAP am Hämoglobinabbau beteiligt sind.²⁴ Neueste knock-out Studien zeigen, dass das Wachstum des Parasiten in der intra-erythrozytären Phase nur in den Mutanten abnimmt, in denen alle vier Plasmeypsine ausgeschaltet wurden, was auf eine überlappende Funktion selbiger schließen lässt. Eine besondere Rolle kommt Plm IV zu, da es das einzige der Plasmeypsine von *P. falciparum* zu sein scheint, welches auch in anderen Plasmodium Spezies, die den Menschen infizieren, anzutreffen ist. Da Malaria-Parasiten sowohl *in vitro* als auch *in vivo* (Mausmodell) durch Plm-Inhibitoren ausgerottet werden, werden sie nach wie vor als Drug Target untersucht.

Neben den Plasmeypsinen werden auch drei Falcipaine, die zur Papain-Familie der Cystein-Proteasen gehören, in der erythrozytären Phase des Parasiten exprimiert. Cystein-Proteasen sind an verschiedenen zellulären Funktionen, wie z.B. am Hämoglobin-Abbau oder auch an der Zerstörung der Zellstruktur der Wirtszelle beteiligt. Cystein-Protease-Inhibitoren beeinträchtigen die Parasiten-Entwicklung, und es kommt zu einer Anhäufung von nicht abgebautem Hämoglobin in der Nahrungsvakuole.

¹⁵ Francis, S.E., Sullivan, D.J.J. et al., *Annu. Rev. Microbiol.* **1997**, 51, 97-123.

¹⁶ Francis, S.E., Gluzman, I.Y. et al., *Eur. Mol. Biol. Organiz. J.* **1994**, 13, 306-317.

¹⁷ Gluzman, I.Y., Francis, S.E. et al., *J. Clin. Invest.* **1994**, 93, 1602-1608.

¹⁸ Dame, J.B., Reddy, C.A. et al.; *Mol. Biochem. Parasitol.* **1994**, 64, 177-190.

¹⁹ Banerjee, R., Liu, Y. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 990-995.

²⁰ Joachimiak, M.P., Chang, C. et al., *Mol. Med.* **2001**, 7, 698-710.

²¹ Sijwali, P.S., Shenai, B.R. et al., *Biochem. J.* **2001**, 360, 481-489.

²² Kolakovich, K.E., Duffin, K.L. et al., *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 32411-32417.

²³ Klemba, M., Gluzman, I., *J. Biol. Chem.* **2004**, 41, 43000-43007.

²⁴ Ermark, K., Samuelsson, B. et al., *Med. Res. Rev.* **2006**, 26, 626-666.

Neben den Plasmeptinen und Falcipainen, welche für die initiale Spaltung des Hämoglobins sowie die weitere Spaltung der dabei entstehenden größeren Peptide verantwortlich sind, beteiligen sich eine Reihe weiterer Proteasen an den nachgeschalteten Abbauprozessen: Der Zink-Metallo-Protease Falcilysin, die zur M16 Familie gehört, scheint jedoch nach jüngeren Erkenntnissen keine essentielle Rolle im Prozess des Hämoglobinabbaus zu zukommen. Der endgültige Abbau der Peptide zu den einzelnen Aminosäuren findet vermutlich im Cytosol statt. Verschiedene homologe Aminopeptidasen wurden im Genom von *P. falciparum* identifiziert namens: PfA-M1 (Alanyl-Aminopeptidase; M1), PfLAP (Leucyl-Aminopeptidase; M17), PfAAP (Aspartyl-Aminopeptidase; M18) und PfAPP (Aminopeptidase P). Im Allgemeinen spalten Aminopeptidasen einzelne Aminosäuren vom *N*-Terminus der Proteine ab. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass PfA-M1 und PfAPP ebenfalls in der Nahrungsvakuole lokalisiert sind.

Die genaue Sequenz der Ereignisse im Hämoglobinabbau, insbesondere ob ein Plasmeptin oder ein Falcipain den anfänglichen Abbauschritt katalysiert, wird weiterhin diskutiert. Eine Kombination von unspezifischen Cystein- (E64) und Aspartyl-Protease-Inhibitoren (Pepstatin) besitzt einen synergistischen Effekt sowohl gegen kultivierte Parasiten als auch im Tier-Modell (Maus, *P. vinckei*-Infektionen).²⁵ Insgesamt gilt eine Hemmung dieses Stoffwechselweges als ein viel versprechender Ansatz zur Entwicklung neuartiger Antimalaria-Wirkstoffe.

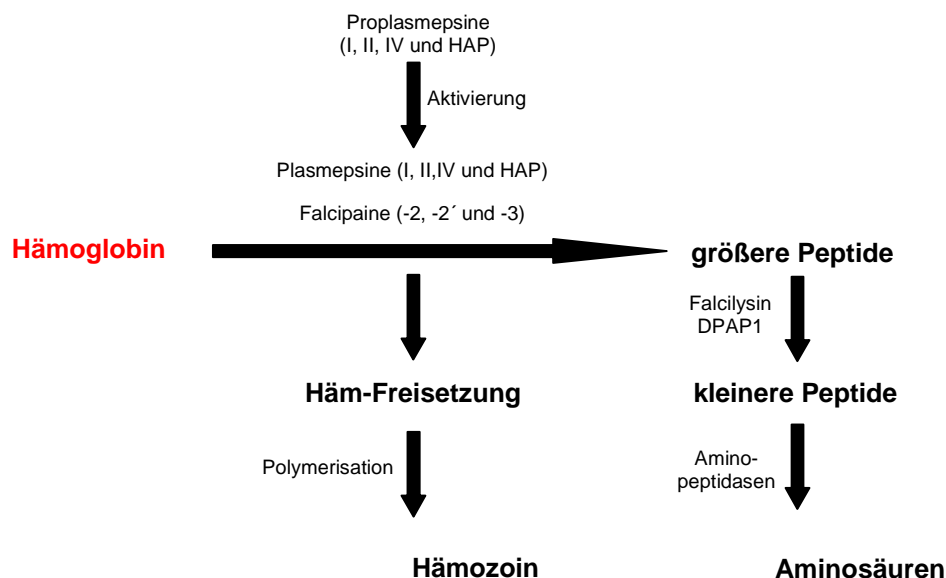


Abbildung 3: Hämoglobinabbau in *P. falciparum*.²⁴

²⁵ Semenov, A., Olson, J.E. et al., *Antimicrob. Agents and Chemother.* **1998**, 42, 2254-2258.

1.3. Plasmepsine als molekulares Target

Die Plasmepsine gehören, wie bereits ausgeführt, zu der Klasse der Aspartyl-Proteasen. Innerhalb dieser Klasse erfolgt die Spaltung eines Peptidsubstrats durch einen nukleophilen Angriff auf die zu spaltende Peptidbindung durch ein zuvor durch die Aspartate aktiviertes Wassermolekül. Es bildet sich ein tetraedraler Übergangszustand eines geminalen Diols, der durch erneuten Protonentransfer in die Spaltprodukte, ein Amin und eine Carbonsäure, zerfällt, wie in *Abbildung 4* veranschaulicht.²⁶ Die Erkennung des Substrats erfolgt durch die Bindetaschen beiderseits der Spaltstelle. Aspartyl-Proteasen erkennen im Allgemeinen zwischen 6 und 10 Seitenketten eines gebundenen Peptidsubstrats. Durch die unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften der Bindetaschen wird die jeweilige Substratspezifität erreicht, wie in *Abbildung 5* schematisch dargestellt.

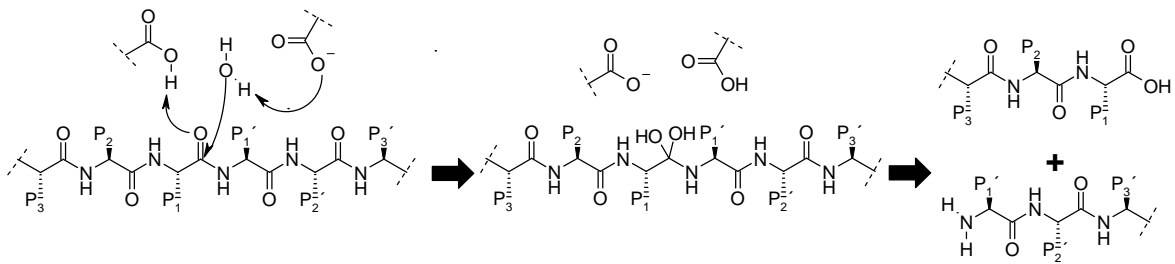


Abbildung 4: Katalytischer Mechanismus der Substratspaltung.

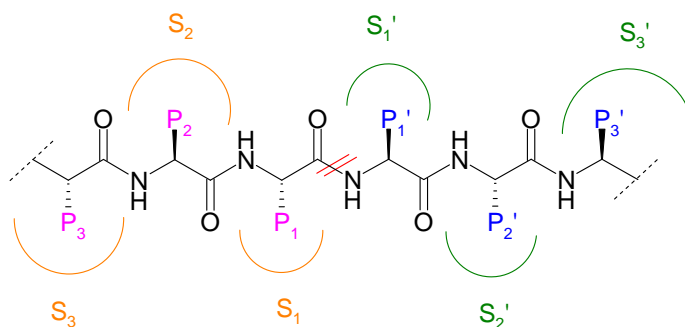


Abbildung 5: Nomenklatur nach Schechter und Berger.

²⁶ Stryer, L., *Biochemie*, Spektrum Verlag **1995**, 4. Auflage, 239 ff.

Nach Schechter und Berger werden diese Spezifitätstaschen in Richtung des *N*-Terminus mit $S_i, \dots, S_3, S_2, S_1$ und die entsprechenden Seitenketten des gespaltenen Peptidsubstrats mit $P_i, \dots, P_3, P_2, P_1$ bezeichnet, in Richtung des *C*-Terminus entsprechend mit $S_i', \dots, S_3', S_2', S_1'$ bzw. $P_i', \dots, P_3', P_2', P_1'$.²⁷

Im Allgemeinen spalten Aspartyl-Proteasen bevorzugt zwischen hydrophoben Aminosäuren, was zur Folge hat, dass dieser Substraterkennungsbereich bei vielen Mitgliedern dieser Klasse sehr ähnlich ist.

Die Plasmepsine I, II und IV gehören zu der Familie der pepsinartigen Aspartyl-Proteasen (Subfamilie A1A).²⁸ Neben Pepsin selbst werden u. a. auch Endothiapepsin, β -Sekretase, Cathepsin D sowie Renin zu dieser Familie gezählt. Die Plasmepsine I und II sind zu 73% sequenzhomolog. Zu Cathepsin D, der ähnlichsten humanen Protease, weisen sie eine Sequenzhomologie von immerhin 35% auf.

In *Abbildung 6* ist die Kristallstruktur von Plasmepsin II im Komplex mit Pepstatin A dargestellt.

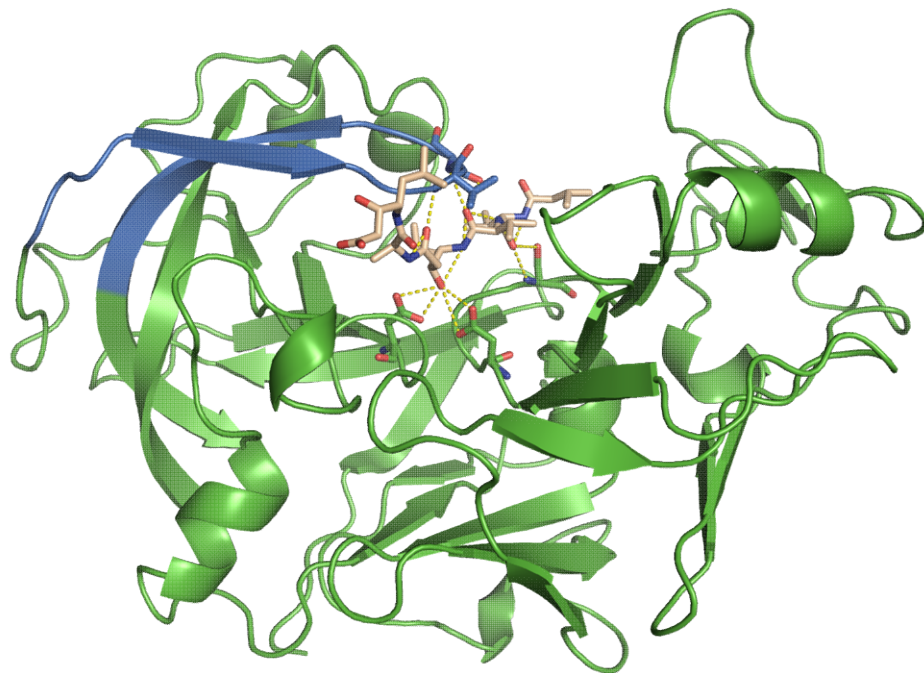


Abbildung 6: Kristall-Struktur von Plm II (Cartoon der Tertiärstruktur ist in grün, der „flap“ in blau wiedergegeben) im Komplex mit Pepstatin A (Sticks in lachsfarben, farbcodiert nach Atom-Typen). Die Abbildung wurde mittels Pymol 0.99 erstellt.²⁹

²⁷ Schechter, I., Berger, A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1967**, 27, 157.

²⁸ Dunn, B.M., *Chem. Rev.* **2002**, 102, 4431.

²⁹ Delano, W.L., *The Pymol Mol. Graphics Syst.*, DeLano Scientific, San Carlos, CA (USA) **2002**, <http://pymol.sourceforge.net/>

Plasmeypsin II besteht aus einer Einfachkette von 329 Aminosäuren, die sich in eine *N*- und eine *C*-terminale Domäne aufspaltet. Pepstatin A adressiert mit seiner sekundären Hydroxyl-Gruppe, die ein Analogon des Übergangszustands darstellt, die beiden katalytischen Aspartate (Asp 34 und Asp 214, *Abbildung 7*). Die Aspartate sind am Boden der Bindetasche lokalisiert. Das aktive Zentrum wird von der so genannten Flap-Region, in *Abbildung 6* in blau dargestellt, bedeckt. Der „flap“ ist ein flexibles Strukturelement, das sich „öffnet“ und so dem Substrat oder auch einem Inhibitor den Zugang zum aktiven Zentrum ermöglicht. Nach Bindung des Substrats „schließt“ sich dieser Deckel wieder und fixiert somit auch das Substrat in der Bindetasche. Dargestellt sind Wasserstoffbrücken zwischen Ser 79 und Val 78 der Flap-Region und Pepstatin A sowie weitere Wechselwirkungen zu Ser 218 in der *S*₁-Tasche.

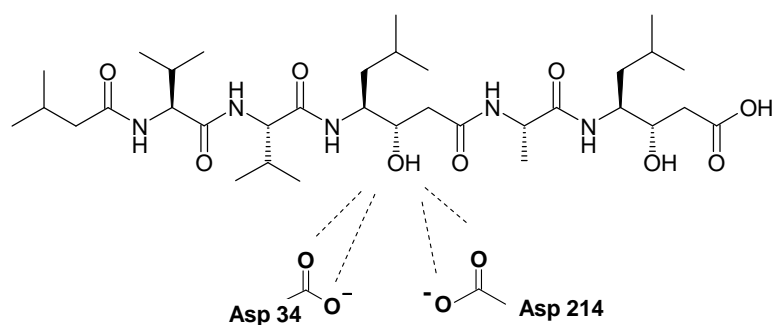


Abbildung 7: Adressierung der katalytischen Aspartate von Plasmespin II durch Pepstatin.

1.3.1. Plasmeypsin-Inhibitoren

Da die Kristallstruktur von Plm II die erste öffentlich zugängliche war, richteten sich die meisten Forschungsarbeiten zunächst auf die Entwicklung von Plm II-Inhibitoren. Die meisten dieser Inhibitoren sind peptidomimetische Übergangszustands-Analoga, welche die 2 Aspartate des aktiven Zentrums durch Hydroxy- oder Hydroxy-ähnliche Reste adressieren.^{30,31} Allgemein weisen diese peptidomimetischen Inhibitoren Aktivität im unteren nanomolaren Bereich gegen Plm II auf, jedoch nimmt ihre *in-vitro* Aktivität üblicherweise signifikant ab. So fand man Verbindungen, die eine hervorragende inhibitorische Potenz gegenüber Plm II aufweisen, welche dann leider in Kultur nicht bestätigt werden konnte. Als

³⁰ Rich, D.H., *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 263-273.

³¹ Cooper, J.B., *Curr. Drug Targets* **2002**, 3, 155-173.

Beispiel kann man an dieser Stelle Pepstatin aufführen. Der Inhibitor weist gegen Plm II einen IC_{50} -Wert von 0,44 nM auf, im Zell-Assay lediglich einen IC_{50} -Wert von 9,4 μ M.^{32,33} Dieser bekannte Effekt kann entweder auf unvorteilhafte pharmakokinetische Eigenschaften, z. B. auf schlechte Zell-Permeabilität oder auf die Tatsache, dass nicht alle vier Plasmepepsine gleich gut inhibiert werden, zurückgeführt werden. Einen hervorragenden Überblick über Plasmepepsin-Inhibitoren gibt Hallberg et al.²⁴

Die Aspartyl-Protease Renin ist strukturell verwandt zu Plm II mit einer 35%-igen Sequenz-Homologie. Die Suche nach nicht-peptidischen Inhibitoren von Renin mittels *High-Throughput-Screening* bei der Roche AG Mitte der 90er Jahre führte zur Entdeckung von 3,4-disubstituierten Piperidinen des Typs **1** als neuartige Leitstruktur.^{34,35} Die beiden katalytischen Aspartate werden durch die basische und höchstwahrscheinlich protonierte sekundäre endozyklische Amino-Funktionalität des Piperidinrings adressiert. Die weitere strukturelle Optimierung dieser Substanzklasse führte nicht nur zu picomolaren Renin-Inhibitoren,^{36,37} sondern interessanterweise zeigten einige dieser Inhibitoren ebenso viel versprechende Aktivität gegen Plm I und II. So hemmt Verbindung **2** Plm I und Plm II mit einem IC_{50} -Wert von ca. 1 μ M, die Verbindung **3** zeigt sogar nanomolare Aktivität gegen den Parasiten.³⁸

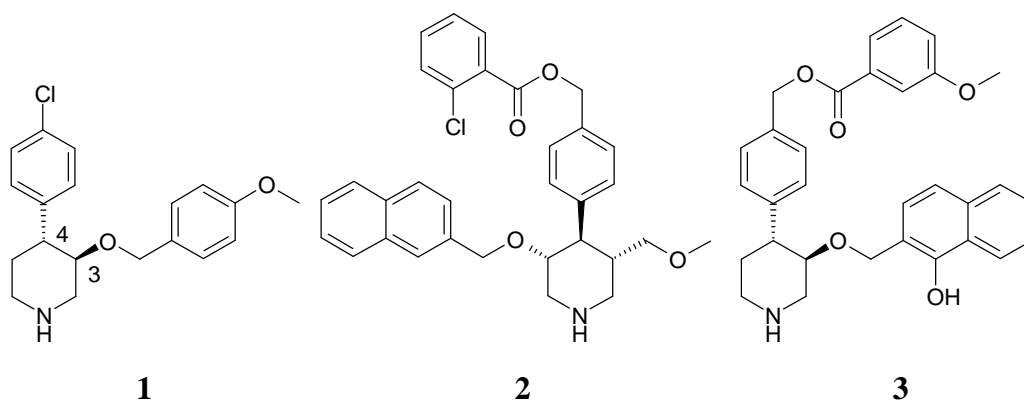


Abbildung 8: Bei der Roche AG entwickelte Inhibitoren Mitte der 90er Jahre.³⁴

³² Silva, A.M., Lee, A.Y. et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 10034-10039.

³³ Binkert, C., Frigero, M. et al., *ChemBioChem* **2006**, 7, 181-186.

³⁴ Oefner, C., Binggeli, A. et al., *Chem. Biol.* **1999**, 6, 127-131.

³⁵ Binggeli, A., Breu, V. et al., *World (PCT) Patent* **1996**, WO9709311-A1.

³⁶ Güller, R., Binggeli, A. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1403-1408.

³⁷ Vieira, E., Binggeli, A., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1397-1402.

³⁸ Boss, C., Richard-Bildstein, S. et al., *Curr. Med. Chem.* **2003**, 10, (11), 883-907.

Durch Aufklärung der Kristallstruktur konnte ein unerwarteter Bindungsmodus bestimmt werden:

Der protonierte Piperidinring adressiert weiterhin mit seinem Stickstoff beide Aspartate im aktiven Zentrum. Der in Position 4 *p*-substituierte hydrophobe Phenyl-Rest öffnet eine neue Tasche im Renin. Nachdem das Substrat gebunden hat, legt sich der „flap“ normalerweise über die Bindetasche, doch durch den Inhibitor wird der „flap“ nach außen gedrückt, so dass die beobachtete Geometrie einer geöffneten Konformation des Flap-Bereichs entspricht.

Man kann davon ausgehen, dass in allen Aspartat-Proteasen dieser Flap-Bereich eine gewisse Flexibilität besitzt und man durch geeignete Inhibitoren diesen in unterschiedliche Konformationen stabilisieren kann.

Dieses Konzept, die Aspartate mittels einesamins zu adressieren, wurde in der Folgezeit von verschiedenen Arbeitsgruppen aufgegriffen und auch auf andere Vertreter dieser Protease-Familie übertragen.

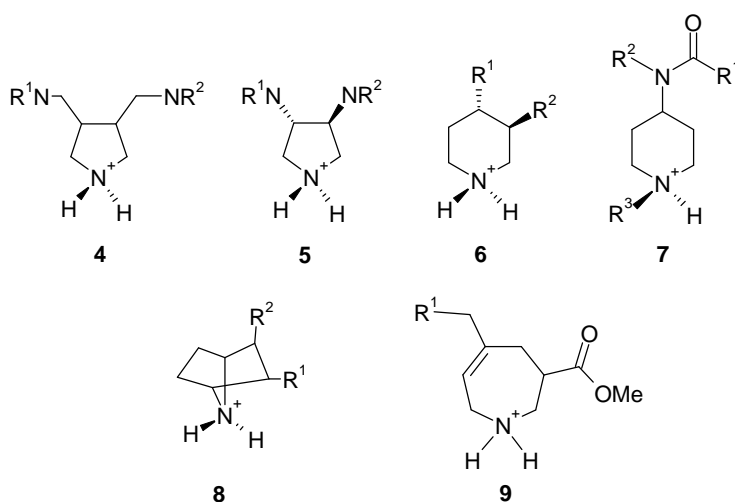


Abbildung 9: Aspartat-Protease-Inhibitoren vom Typ zyklischer Amine.

So konnte vor kurzer Zeit gezeigt werden, dass Pyrrolidine des Strukturtyps **4** mikromolare Inhibitoren der Aspartyl-Protease HIV-1 sind.^{39,40} In unserem Arbeitskreis wurden diese sehr erfolgreich zu nanomolaren Inhibitoren der HIV-Protease weiterentwickelt (Strukturtyp **5**).^{41,42} Diederich und seine Mitarbeiter an der ETH Zürich beschrieben ein 7-Azabicyclo-

³⁹ Specker, E., Böttcher, J. et al., *ChemMedChem* **2006**, 1, 106-117.

⁴⁰ Specker, E., Böttcher, J. et al., *Angew. Chemie Intern. Ed.* **2005**, 44, 3140-3144.

⁴¹ Blum, A. et al., *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2078-2087.

⁴² Böttcher, J. et al., *ChemMedChem* **2008**, 3, 1337-1344.

[2.2.1]heptan-Gerüst als eine Grundstruktur für die Entwicklung von Plm II und IV-Inhibitoren **8**.^{43,44,45}

Einen sehr ähnlichen Ansatz verfolgte Actelion Pharmaceuticals (Strukturtyp **7**).^{46,47} Aus einem Screening einer Bibliothek von 50.000 kommerziell erhältlichen Substanzen gingen Verbindungen wie **10** hervor, deren gezielte Weiterentwicklung zu einer Serie substituierter *N*-(Dibutylaminoethyl)-benzamide wie Verbindung **11** und substituierter 4-Aminopiperidine wie Verbindung **12** als aussichtsreiche Verbindungsklasse führte.

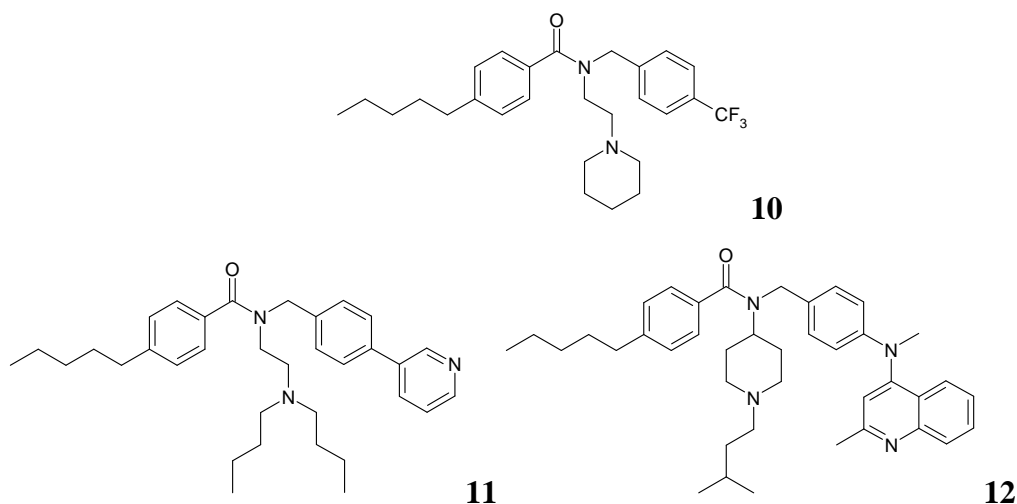


Abbildung 10: Bei Actelion Pharmaceuticals entwickelte Verbindungen.

Diese Verbindungen bilden nicht direkt Wasserstoffbrücken zwischen den Aspartaten des katalytischen Zentrums und dem protonierten Stickstoff aus, sondern ein Wassermolekül vermittelt diesen Kontakt.

In unserer Arbeitsgruppe wurde Verbindung **9**, welche die Grundstruktur eines substituierten Azepins darstellt, entwickelt. Durch Seitenkettendekoration konnten erste Plasmepsin II-Inhibitoren synthetisiert werden, die IC₅₀-Werte im mikromolaren Bereich aufweisen.

⁴³ Carcache, D.A. et al., *ChemBioChem* **2002**, 3, 1137-1141.

⁴⁴ Carcache, D.A. et al., *Helv. Chim. Acta* **2003**, 86, 2173-2191.

⁴⁵ Hof, F., Schütz, A., *Angew. Chemie Intern. Edt.* **2006**, 45, 2138-2141.

⁴⁶ Prade, L., Jones, A.F. et al., *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 23837-23843.

⁴⁷ Corminboeuf, O., Dunet, G., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 6194-6199.

1.3.2. Kristallstrukturen von Plasmeypsin II

Bisher wurden 15 *P. falciparum* Plm II-Inhibitor Komplex-Strukturen in der Proteindatenbank (PDB) hinterlegt; 14 von ihnen können in drei Gruppen klassifiziert werden, die unterschiedliche Bindungsmodi aufweisen:

- 1) 8 Komplexe enthalten entweder Pepstatin A oder Pepstatin-ähnliche Analoga als Inhibitoren. Als Übergangszustands-Analoga besitzen sie einen sehr ähnlichen Ligand-Bindungsmodus. Der Flap ist hierbei geschlossen. (PDB codes: 1SME,³² 1ME6, 1XDH, 1XE5, 1XE6, 1W6H, 1W6I und 1M43) (a).
- 2) Die zweite Gruppe beinhaltet drei Komplexe (1LF2, 1LEE und 1LF3)^{48,49} in welcher sich die Bindetasche in einer teilweisen geöffneten Konformation befindet (b).
- 3) In der dritten Gruppe ist eine neue Spezifitätstasche, die Flap-Tasche, nicht verschlossen und wird von den Inhibitoren adressiert (2BJU ($K_i = 34$ nM),⁴⁶ 2IGY⁵⁰ und 2IGX⁵⁰) (c).

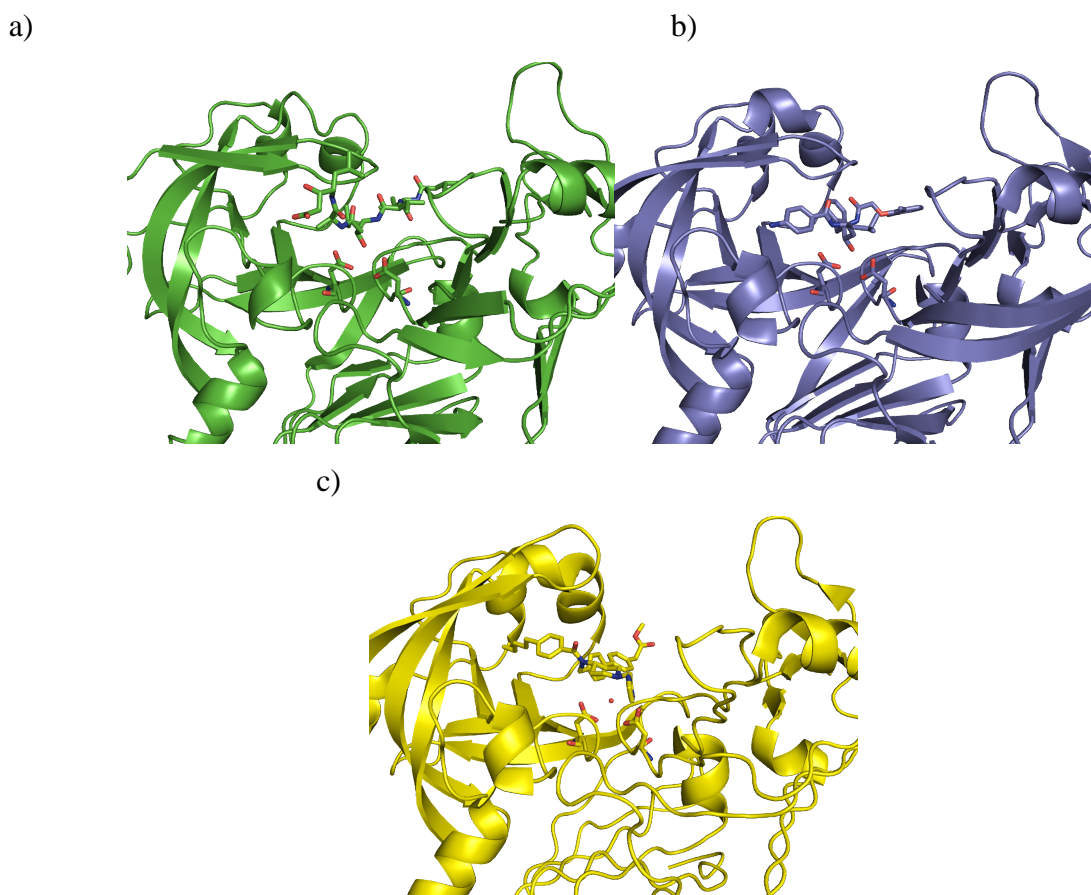


Abbildung 11: Kristallstrukturen von Plasmeypsin II in unterschiedlichen Flap-Konformationen. (a) Flap ist geschlossen. (b) Flap ist teilweise geöffnet. (c) Flap ist ganz geöffnet. Die Abbildungen wurden mittels Pymol 0.99 erstellt.

⁴⁸ Asojo, O.A. et al., *Acta Crystallogr. Sect. D: Biol. Crystallogr.* **2002**, 58, 2001-2008.

⁴⁹ Asojo, O.A. et al., *J. Mol. Biol.* **2003**, 327, 173-181.

⁵⁰ Boss, C. et al., *ChemMedChem* **2006**, 1, 1341-1345.

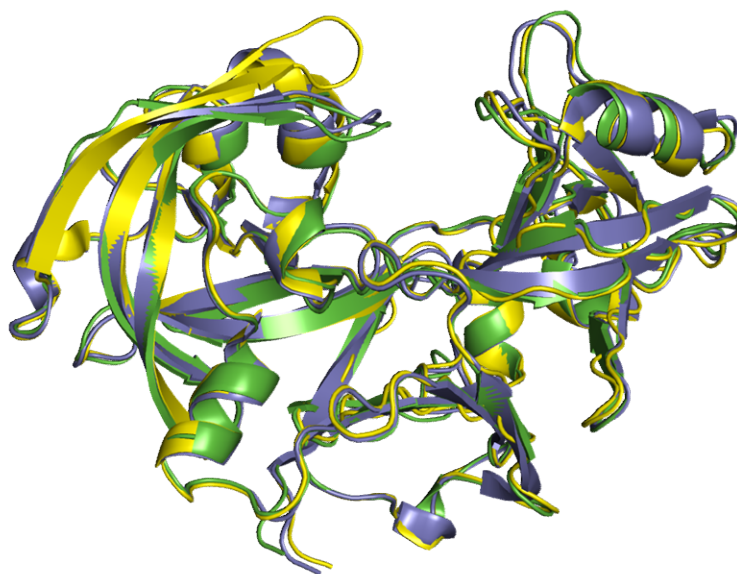


Abbildung 12: Übereinanderlagerung der Kristallstrukturen von Plasmepsin II in den unterschiedlichen Flap-Konformationen (grün = Flap geschlossen, blau = Flap teilweise geöffnet, gelb = Flap geöffnet). Die Abbildung wurde mittels Pymol 0.99 erstellt.

Die Kristallstrukturen belegen, dass Plasmepsin II und sehr wahrscheinlich auch Plm I und IV sehr flexible Proteine sind,⁵¹ ein Umstand der auch durch Molekulardynamik (MD) Simulation bestärkt werden konnte.^{52,53,54,55} Eine Literatur-Recherche zeigt zudem, dass es sich als recht schwierig erwiesen hat, Kristalle des Enzyms, die von ihrer Qualität her für eine strukturelle Bestimmung geeignet sind, mit einem Inhibitor, der keinen Pepstatin-ähnlichen Bindungsmodus eingeht, zu erhalten. Offensichtlich gelingt die Kristallisation erst mit hoch-affinen, praktisch am Ende eines Entwicklungsprozesses stehenden Inhibitoren. Auch Plasmepsin I und IV können höchstwahrscheinlich ebenfalls zusätzliche Konformationen, die von Inhibitoren stabilisiert werden können, einnehmen.

Für *P. falciparum* Plm IV ist derzeit nur eine einzelne Co-Kristall Struktur des Enzyms im Komplex mit Pepstatin A erhältlich (PDB code:1LS5).⁵⁶ Für Plm I wurde bis jetzt nur ein Homologie-Model beschrieben.³²

⁵¹ Bursavich, M.G. et al., *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 541-558.

⁵² Ersmark, K. et al., *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 110-122.

⁵³ Ersmark, K. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3723-3733.

⁵⁴ Weik, S. et al., *ChemMedChem* **2006**, 1, 445-457.

⁵⁵ Ersmark, K. et al., *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6090-6106.

⁵⁶ Asojo, O.A., Gulnik, S.V., *J. Mol. Biol.* **2003**, 327, 173-181.

2. Aufgabenstellung

In unserer Arbeitsgruppe wurde, wie in *Kapitel 1.3.1.* erwähnt, ein 2,3,4,7-Tetrahydro-1*H*-azepin-Grundgerüst als neuer Kernbaustein zur Entwicklung von Aspartyl-Protease-Inhibitoren gewählt. Die zentrale Synthesestufe, die die Einführung der die Spezifitätstaschen adressierenden Substituenten erlaubt, gelingt nach S. Brass in einer 6-stufigen konvergenten Synthese, welche in *Abbildung 13* wiedergegeben ist.^{57,58}

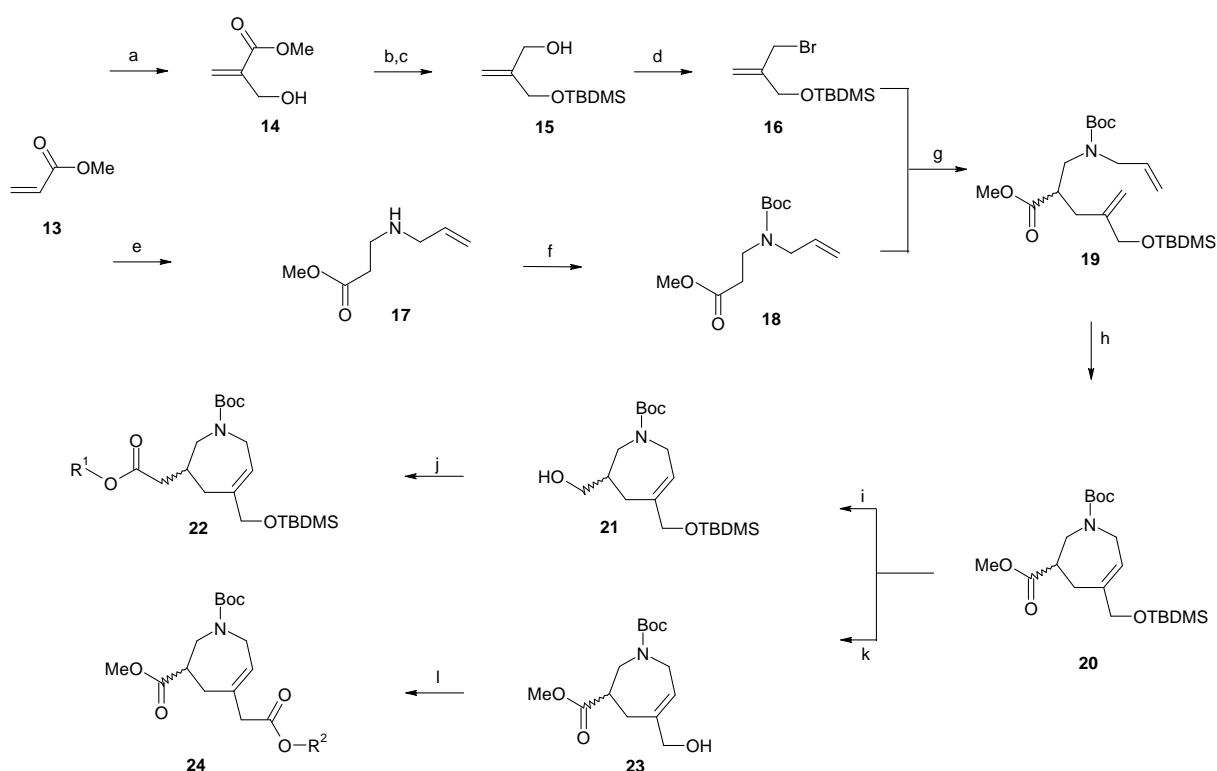


Abbildung 13: Synthese der 3,5-disubstituierten-Tetrahydro-1*H*-azepine nach S. Brass. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) H_2CO , DABCO, Dioxan/ H_2O , 15 h, RT, 68%; (b) TBDMSCl, TEA, DMAP, DCM, 0°C – RT, 15 h, 91%; (c) DIBAL-H, THF, -78°C – 0°C , 2 h, 80%; (d) TPP/ Br_2 , Imidazol, DCM, 0°C , 0.5 h, 84%; (e) Allylamin, MeOH, 40°C , 4 h, 75%; (f) $(\text{Boc})_2\text{O}$, TEA, DMAP, DCM, RT, 14 h, 93%; (g) LDA, HMPA, THF, -40°C , 5 h, 84%; (h) Grubbs-Katalysator II 1mol%, DCM, 40°C , 5 h, 87%; (i) DIBAL-H, THF, -78°C – 0°C , 3 h, 76%; (j) Carbonsäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 14 h; (k) 1% $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ in THF, RT, 30 min, 87%; (l) Carbonsäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 14 h.

Ausgangspunkt beider zusammenführender Wege ist Acrylsäuremethylester **13**. Über eine Baylis-Hillman-Reaktion^{59,60} mit Formaldehyd reagiert dieser zu **14**. Nach anschließender TBDMS-Schützung und Reduktion der Ester-Funktionalität wird der entsprechende Alkohol

⁵⁷ Brass, S. et al., *Tetrahedron* **2006**, 62, 1777-1786.

⁵⁸ Brass, S., Chan, N.-S. et al., *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 5406-5422.

⁵⁹ Price, K.E., Broadwater, S.J. et al., *Org. Lett.* **2005**, 7, 147-150.

⁶⁰ Price, K.E., Broadwater, S.J. et al., *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 3980-3987.

15 gewonnen, der nach Bromierung⁶¹ das gewünschte Elektrophil **16** liefert. Durch α -Substitution des Elektrophils **16** mit **18**, welches man mittels einer Michael-Addition⁶² von **13** und Allylamin und darauf folgender Boc-Schützung erhält, wird die gewünschte RCM (ring-closing-metathesis)-Vorstufe **19** gebildet, welche mit dem Grubbs-Katalysator^{63,64,65} der 2. Generation zu **20** ringgeschlossen wird.

Auf der Stufe der Kernstruktur **20** und der aus ihr durch Reduktion des Methylesters darstellbaren Verbindung **21** bzw. der durch Abspaltung der Silyl-Schutzgruppe darstellbaren Verbindung **23** ist nun die gezielte Einführung unterschiedlicher Substituenten in Position 3 und 5 des Azepin-Systems möglich. Im letzten Syntheseschritt erfolgt schließlich die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe und damit die Freisetzung der sekundären Aminfunktion, die für die Interaktion mit den beiden Aspartat-Resten der katalytischen Diade essentiell ist. In einem ersten Synthesesyklus konnten von S. Brass einzelne Vertreter der Strukturtypen **25-27** dargestellt werden, die Plasmepsin II im mittleren mikromolaren Bereich hemmen.

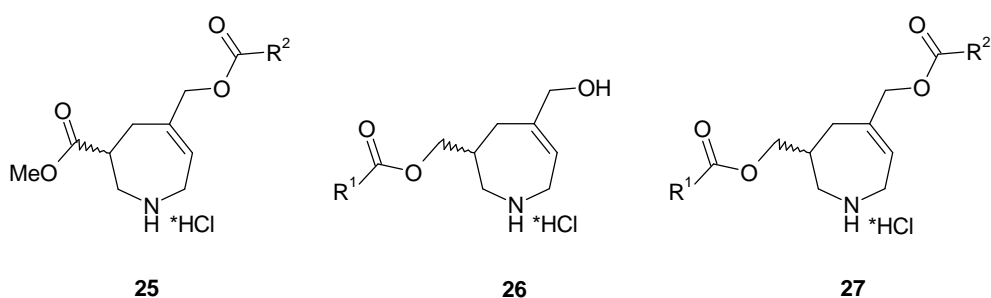


Abbildung 14: Plasmepsin II-Inhibitoren basierend auf der Azepin-Grundstruktur.

Im Vordergrund dieser organisch-präparativen Arbeit stand somit zunächst die Seitenkettenoptimierung von Plasmepsin II-Inhibitoren basierend auf der Grundstruktur der 3,5-disubstituierten 2,3,4,7-Tetrahydro-1*H*-azepine obiger Synthesesequenz folgend.

Darüber hinaus war ein weiteres Ziel dieser Arbeit die Entwicklung einer neuen Synthesestrategie, die es ermöglichen sollte, die entsprechenden Azepin-Grundgerüste mit verkürztem Carbonyl-Abstand zum Grundgerüst in Position 3 und/oder 5 darzustellen. Die neuen Grundgerüste sind in *Abbildung 15* dargestellt.

⁶¹ Appel, R., *Angew. Chemie Intern. Edt.* **1975**, *12*, 801-811.

⁶² Sundberg, R.J., Pearce, B.C. et al., *J. Heterocycl. Chem.* **1986**, *23*, 537-539.

⁶³ Grubbs, R.H., Chang, S., *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.

⁶⁴ Fürstner, A., *Angew. Chemie Intern. Edt.* **2000**, *39*, 3012-3043.

⁶⁵ Grubbs, R.H., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117-7140.

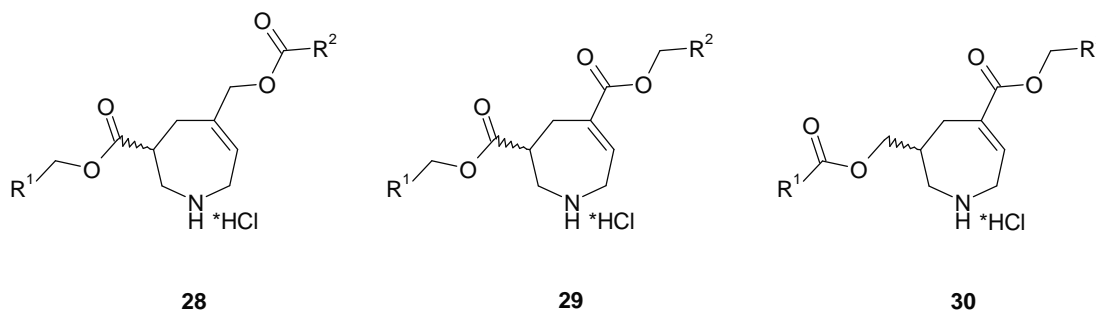


Abbildung 15: Variation des Carbonyl-Abstandes in Position 3 und/oder 5 im Azepin-Grundgerüst.

Den Anstoß für die Verkürzung des Carbonyl-Abstandes gaben Arbeiten von Blum et al.,⁶⁶ welche in unserem Arbeitskreis durchgeführt wurden. Hier war es gelungen, eine Bibliothek verschiedener achiraler Oligoamine mit unterschiedlich langen Linker-Gruppen zu synthetisieren und auf eine Inhibition gegenüber 6 unterschiedlichen Aspartat-Proteasen, unter anderem Plasmepsin II und Plasmepsin IV, hin zu untersuchen. Hierbei zeigte sich, die große Bedeutung der Länge des Akzeptor-Abstandes. So konnte man erkennen, dass tendenziell die Verbindungen mit einer kürzeren Linker-Gruppe eine höhere Aktivität in Bezug auf eine Inhibition von Plasmepsin II bzw. IV aufwiesen. Im Falle von Renin war sogar nur bei den Verbindungen mit dem kürzesten Linker-Abstand überhaupt eine Inhibition zu beobachten.

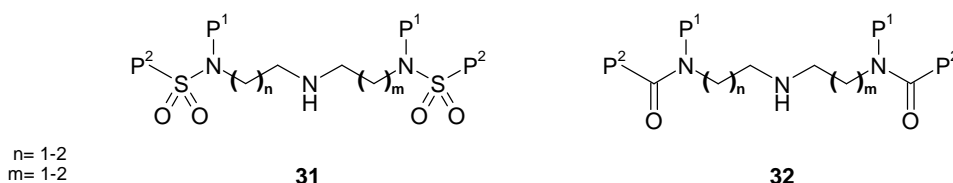


Abbildung 16: Grundstrukturen der von Blum et al. synthetisierten Oligoaminen mit unterschiedlichen Linker-Abständen.

So soll auch im Fall der Azepin-basierten Inhibitoren durch systematische Variation der Carbonyl-Distanz der optimale Abstand zur Adressierung der Flap-Region festgestellt werden.

Im Zuge der Arbeiten von S. Brass wurden ausschließlich Zielverbindungen dargestellt, die in der Lage waren zwei der vier Spezifitätstaschen von Plasmepsin II zu adressieren.

Somit war ein weiteres Ziel dieser Arbeit, die Einführung weiterer die Spezifitätstaschen adressierenden Reste, durch die eine Affinitätserhöhung erreicht werden soll.

⁶⁶ Blum, A. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8574-8586.

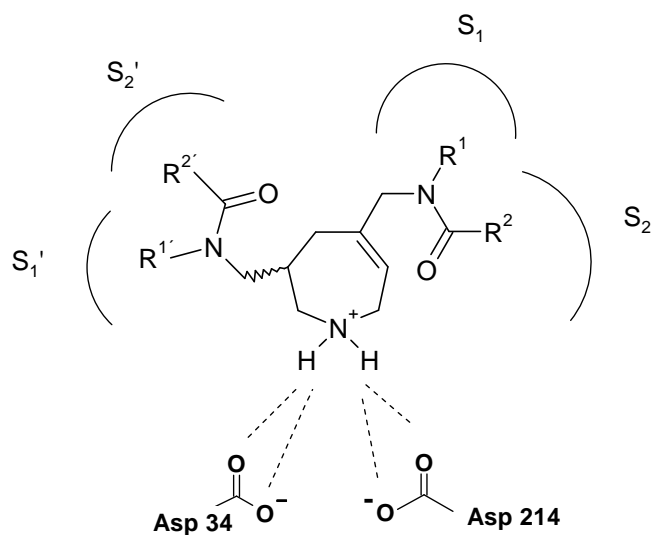


Abbildung 17: Schematische Darstellung eines Azepin-basierten Inhibitors, der weitere Spezifitätstaschen in Plm II adressiert.

Die entsprechenden Modellierung- und Docking-Studien wurden im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Klebe von Herrn Dr. Torsten Luksch im Zuge seiner Promotionsarbeit sowie von Herrn Tobias Craan durchgeführt. Herr Dr. Torsten Luksch und Frau Helene Krüger führten die Affinitätsbestimmungen durch.

3. Synthese 3,5-disubstituierter nicht-peptidischer Plasmepsin II- und IV-Inhibitoren⁶⁷

Das erfolgreiche Design der nicht-peptidischen Renin-Protease-Inhibitoren der Roche AG (*Kapitel 1.3.1*) zeigt, dass Renin und sehr wahrscheinlich auch andere Aspartyl-Proteasen im Sinne eines *induced-fit* Mechanismus unterschiedliche Konformationen einnehmen können, die sich durch niedermolekulare Substanzen stabilisieren lassen, was letztendlich in einer Hemmung resultiert. Dieser Ansatz des „*targeting*“ von Enzym-Konformationen, die jenseits bisher bekannter Konformationen (z. B. natives Enzym oder Enzym/peptidischer Inhibitor) liegen, eröffnet neue Perspektiven für die Entwicklung von Enzym-Inhibitoren. Auch Plasmepsin II und höchstwahrscheinlich auch Plm I und IV sind sehr flexible Proteine, was zum einem durch die Röntgenstrukturen verschiedener Enzym-Inhibitorkomplexe und zum anderen durch Molekuldynamik-Untersuchungen an Plasmepsin II belegt werden konnte. Bisher wurden drei deutlich voneinander abweichende Bindungsmodi entdeckt, in denen die flexible Flap-Region unterschiedliche Konformationen einnimmt (*vgl. Kapitel 1.3.2. Abb. 11 und 12*).

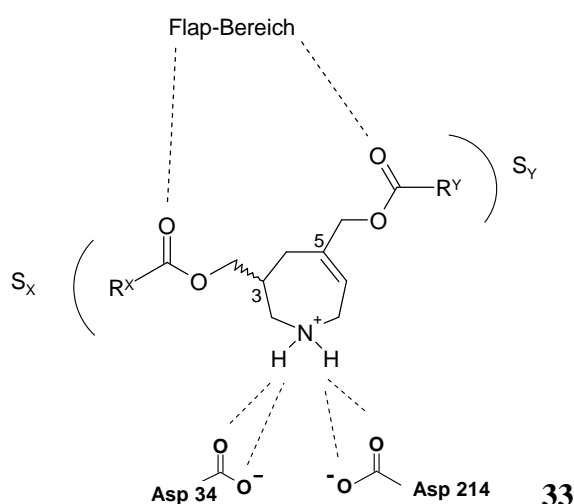


Abbildung 18: 3,5-Bis-carboxymethyl-substituiertes Azepin-Derivat sowie seine potentiellen Wasserstoff-Brücken-Bindungen im aktiven Zentrum von Plasmepsin.

Ausgangspunkt unserer Studien war (*rac*)-3,5-Bis-hydroxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepin. Dieses adressiert mit seinem vermutlich protonierten endozyklischen Aminstickstoff die beiden katalytischen Aspartate. Durch Veresterung der beiden primären Hydroxy-Funktionalitäten dieses Kerngerüsts lassen sich entsprechende Substituenten in Position 3 und

⁶⁷ Die Ergebnisse dieses Kapitels wurden bereits publiziert: Luksch, T.*, Chan, N.-S.* et al., *ChemMedChem* **2008**, 3, 1323-1336.

5 des Azazyklus einfügen und so die Spezifitätstaschen von Plasmeptin II adressieren. Die Carbonyl-Sauerstoffe dieser beiden Ester-Funktionalitäten sollen als Akzeptor-Gruppen entsprechende Wechselwirkungen zur Flap-Region ausbilden, wie in *Abbildung 18* schematisch skizziert.

Der Syntheseroute von S. Brass folgend wird als zentraler Synthesebaustein der 5-(*tert*-Butyldimethyl-silanyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydroazepin-1,3-dicarbonsäure-1-*tert*-butyl-3-methylester **20** als Racemat (*rac*) erhalten.^{57,58} Um Aussagen über einen möglichen Bindungsmodus zu treffen, wurde zunächst das *R*- und das *S*- Enantiomer des entsprechenden Methylesters mit Hilfe von FlexX^c gedockt.⁶⁸ Als Referenzgeometrien dienten die Protein-Konformere aus den Kristall-Strukturen 1SME (Pepstatin ähnlich, Flap ist geschlossen), 1LF2 (teilweise geöffnete Konformation) sowie 2BJU (Flap-Tasche ist geöffnet). In allen Fällen besaß das *R*-Enantiomer den jeweils besseren Score im direkten Vergleich zum *S*-Enantiomer. Darüber hinaus erhielt das *R*-Enantiomer im Konformer 1LF2 den besten Score relativ zu den anderen beiden Konformeren (*Tabelle 1*).

PDB code	34	35
1SME	-18.5	-17.8
2BJU	-16.1	-14.2
1LF2	-24.8	-18.2

Tabelle 1: Ermittelte Score-Werte mittels FlexX^c generiert für das *R*- (links) und *S*-Enantiomer (rechts), die in drei unterschiedliche Plm II Kristallstruktur-Geometrien (1SME, 2BJU und 1LF2) gedockt wurden.

⁶⁸ Rarey, M., Lengauer, T., *Perspect. Drug Discov. Des.* **2000**, 20, 63-81.

Betrachtet man die Kristall-Struktur 1LF2 mit dem darin gebundenen peptidomimetischen Inhibitor RS370 (**36**) genauer, so zeigt sich, dass die Hydroxyl-Gruppe des Hydroxypropylamins Wasserstoff-Brücken zur katalytischen Diade ausbildet. Darüber hinaus werden zusätzliche Wasserstoff-Brücken zu den im Flap lokalisierten Val 78 und Ser 79 ausgebildet (Abbildung 19a).

Vergleicht man nun die Docking-Lösung des Azepin-Derivates (Abbildung 19b) mit dieser Kristallstruktur des Liganden RS370, so lässt sich ein analoges Wechselwirkungsmuster erwarten. Im Fall des Azepin-Derivats adressiert der protonierte Stickstoff die Aspartate der katalytischen Diade. Der Carbonyl-Sauerstoff der Ester-Funktion in Position 3 adressiert die NH-Funktion des Rückgrats von Val 78 des Flaps. Der Ester-Carbonyl-Sauerstoff in Position 5 bildet eine Wasserstoff-Brücken-Bindung zur Hydroxy-Gruppe von Ser 79 in der Flap-Region aus. In dieser Docking-Lösung orientieren sich die beiden terminalen Methyl-Gruppen in Richtung der S_1 - und S_2 '-Tasche. Betrachtet man die Platzierung der Methoxy-Gruppen genauer, so ist zu erkennen, dass eine Reihe unterschiedlicher Ester-Substituenten eingefügt werden können, um die entsprechenden Spezifitätstaschen zu adressieren.

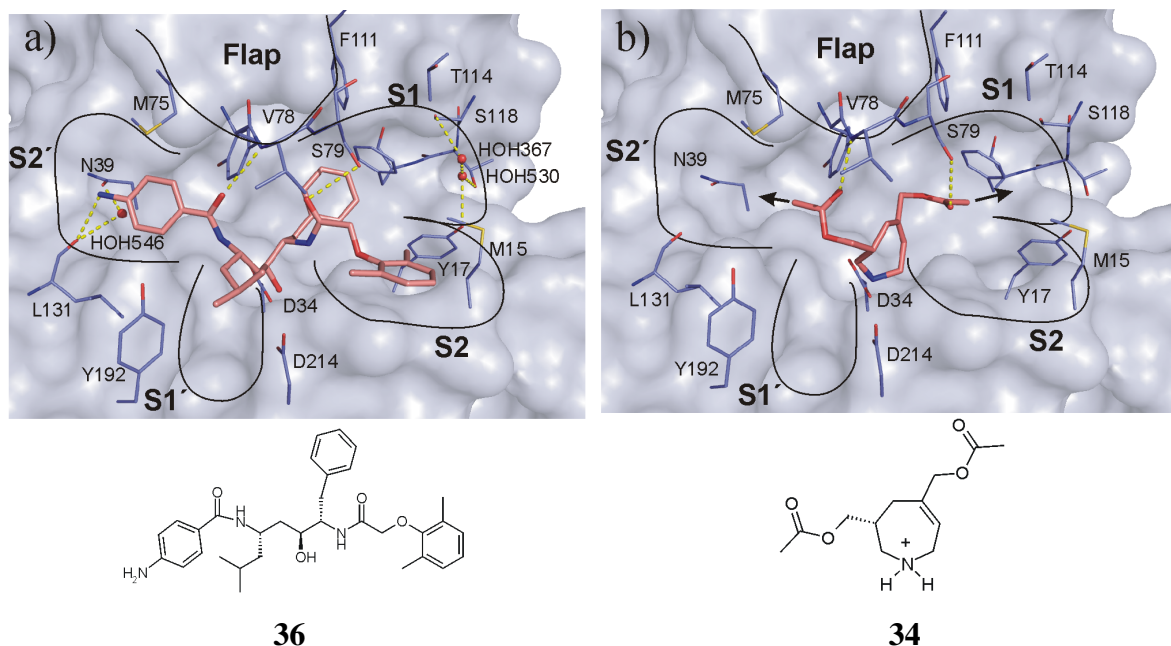


Abbildung 19: (a) Kristall-Struktur 1LF2 (Proteinoberfläche und „sticks“ sind in blau wiedergegeben, die Aminosäuren sind nach Atom-Typen farbcodiert) im Komplex mit RS370 (Sticks in lachsfarben, farbcodiert nach Atom-Typen). Zu erkennen ist einmal die Ausbildung von Wasserstoff-Brücken zu den der Flap-Region zugehörigen Aminosäuren Val 78 und Ser 79 und die Adressierung der katalytischen Diade (Asp 34 und Asp 214) durch die Hydroxy-Gruppe. Die S_1 , S_2 , S_1' und S_2' -Taschen werden durch den Inhibitor adressiert. (b) Docking-Lösung des R-Enantiomers des Azepin-3,5-bis-methylesters (Sticks in lachsfarben, farbcodiert nach Atom-Typen) in der Kristallstruktur 1LF2 (blau). Wasserstoff-Brücken-Bindungen zum Flap und zur katalytischen Diade sind ausgebildet. Die beiden Substituenten adressieren die S_1 - und die S_2' -Tasche. Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

Für Plm IV von *P. falciparum* ist bisher nur eine Co-Kristall-Struktur mit Pepstatin A veröffentlicht. Der Bindungsmodus des Inhibitors in diesem Komplex ist sehr ähnlich zu dem von Pepstatin A in Plm II. Basierend auf den Ergebnissen des Dockings für unsere Grundstruktur mit den drei Protein-Konformeren, wurde für Plm IV ein Homologie-Model mit einer teilweisen geöffneten Protein-Konformation analog der von 1LF2 generiert.

Das Docking der beiden enantiomeren 3,5-Bis-acetoxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepine (**34** und **35**) in die drei Proteinkonformere ergab zum einen, dass das *R*-Enantiomer das Bevorzugte sein sollte und, dass die Kristallstruktur 1LF2 am Besten für die weitere *in-silico*-Optimierung geeignet ist.

Aus *Abbildung 19b* geht hervor, dass geeignete Substituenten in Position 3 und 5 unserer Leitstruktur in die S_2' - und S_1 -Tasche zeigen. Anhand einer Docking- und virtuellen Screening-Studie wurden in Zusammenarbeit mit T. Luksch diese Spezifitätstaschen näher analysiert, um mögliche Substituenten für eine optimale Adressierung beider Bindetaschen zu identifizieren.

Zunächst wurde eine Cavbase-Suche durchgeführt.^{69,70} Cavbase ist eine Methode um die physiko-chemischen Eigenschaften von Bindetaschen zu vergleichen. Die Bindetaschen, die die größte Ähnlichkeit zu der S_1 - und S_2' -Tasche besitzen, stammten ebenfalls von Proteinen aus der Klasse der Aspartyl-Proteasen. Die in diesen Taschen gefundenen Liganden bzw. Bausteine der Liganden wurden anschließend extrahiert und im nachfolgenden Schritt auf ihre Eignung als Synthesyntheton für die Darstellung möglicher Inhibitoren analysiert.

In nahezu einem Drittel aller aufgefundenen Bindetaschen, die Ähnlichkeit zur S_1 -Bindetasche zeigten, wurde ein Phenyl-Rest gefunden (31 aus 100 ähnlichen Taschen). Eine ähnliche Suche für die S_2' -Tasche führte zu weniger schlüssigen Ergebnissen und ein breites Spektrum strukturell unterschiedlicher Bausteine zur Adressierung dieser Spezifitätstasche wurde erhalten. Dies lässt den Rückschluss zu, dass die Spezifität dieser Tasche für einen bestimmten Baustein nicht ganz so ausgeprägt ist.

Im Zuge der Planung eines systematisch und stufenweise aufeinander aufbauenden Inhibitor designs, entschieden wir uns für einen Phenyl-Rest als bestmöglichem Ausgangspunkt zur Adressierung der S_1 -Bindetasche von Plm II. Nachdem die Cavbase-Suche für die S_2' -Bindetasche nicht zu einer eindeutigen Präferenz für einen bestimmten Baustein geführt hatte, wurde für diese Tasche ein weiteres Screening mittels eines kombinatorischen Dockings mit FlexX^c durchgeführt. Basierend auf unserer Synthesesequenz, wurde auch

⁶⁹ Schmitt, S., Kuhn, D., Klebe, G., *J. Mol. Biol.* **2002**, 323, 387-406.

⁷⁰ Kuhn, D. et al., *J. Mol. Biol.* **2006**, 359, 1023-1044.

wieder die Veresterung der primären Hydroxyl-Gruppe zur Einführung des Substituenten ausgewählt. Zum Aufbau der kombinatorischen Bibliothek wurden 2083 unterschiedliche Carbonsäuren, die alle ein Molekulargewicht von unter 250 Da besitzen, aus dem Katalog der Firma Sigma-Aldrich ausgewählt. Mit Hilfe von FlexX^c wurde *in silico* eine Bibliothek von 2083 Estern generiert, gedockt und anschließend wurden die besten 100 Lösungen einer visuellen Sichtung unterzogen (Abbildung 20).

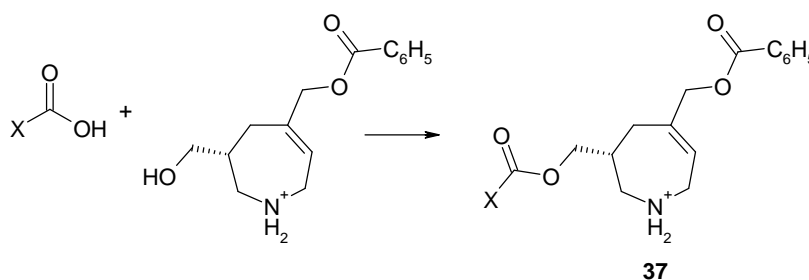


Abbildung 20: Eine Bibliothek von 2083 Estern wurde durch Kuppeln der Grundstruktur mit den unterschiedlichen Carbonsäure-Fragmenten *in silico* generiert.

Die Kristallstruktur 1LF2 mit RS370 zeigt drei Wassermoleküle, die mit dem gebundenem Liganden oder dem Protein interagieren. Diese Wassermoleküle, welche in der S₁- und S₂'-Tasche lokalisiert sind, zeichnen sich durch sehr geringe B-Faktoren aus. Ähnlich platzierte Wassermoleküle könnten auch Einfluss auf den Bindungsmodus unserer gedockten Bibliothek nehmen. HOH546 mit einem B-Faktor von unter 10 Å², welches sich in der S₂'-Tasche befindet, bildet Wasserstoff-Brücken-Bindungen zur Seitenkette Asn 39 und zu dem Carbonyl-Sauerstoff von Leu 131 aus. HOH367 (B-Faktor = 24 Å²) und HOH530 (B-Faktor = 19 Å²) besetzen beide die S₁-Tasche und bilden ein Wasserstoff-Brücken-Netzwerk zwischen Ser 118, Tyr 17 und Thr 119 (Abbildung 19a) aus. Da diese Wassermoleküle im ersten Zyklus unseres kombinatorischen Dockings unberücksichtigt blieben, wurden diese im weiteren Energie-Minimierungs-Schritt mitbetrachtet, um so die optimale Ligand-Geometrie der am Besten bewerteten Ligand-Kandidaten in Anwesenheit dieser Wasser-Moleküle zu ermitteln. Während der Minimierung mit dem Moloc MAB Kraftfeld⁷¹ wurden das Protein und die Wasser-Moleküle starr gehalten, während der Ligand flexibel blieb.

In fast allen Docking-Lösungen interagiert der protonierte Stickstoff der Azepin-Grundstruktur mit den zwei Aspartaten der katalytischen Diade wie dies aus den anfänglichen Dockingläufen zu erwarten war (Abbildung 19b).

⁷¹ Gerber, P. R. et al., *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1995**, 9, 251-268.

Die Ester-Funktionalität in Position 5 des Azepin-Grundgerüsts bildet eine Wasserstoff-Brücke zum Flap-Rest Ser 79 aus. Der Phenyl-Substituent besetzt die überwiegend hydrophobe S_1 -Tasche (*Abbildung 19b*), die von Met 15, Ile 32, Phe 111 und Phe 120 gebildet wird. Der Carbonyl-Sauerstoff der Ester-Funktionalität in Position 3 bildet eine Wasserstoff-Brücke zur NH-Funktion des Rückgrats von Val 78 des Flaps aus. Wie erwartet, besetzen in fast allen Docking-Lösungen die eingebauten X-Gruppen der 2083 Bibliothekskandidaten die S_2' -Tasche. Zu den am Besten bewerteten Lösungen zählen solche, die mit Hydroxy- oder Amino-Funktionalitäten substituierte aromatische Ringsysteme tragen. In *Tabelle 2* ist eine Auswahl an Substituenten aufgeführt. *Abbildung 21* zeigt eine Überlagerung von RS370 mit der Dockinglösung eines *p*-Amino-substituierten Benzoessäureesters des Azepin-Grundgerüsts.

38	39	40	41	42	43

R= COOH

Tabelle 2: Auswahl an Substituenten zur Adressierung der S_2' -Tasche.

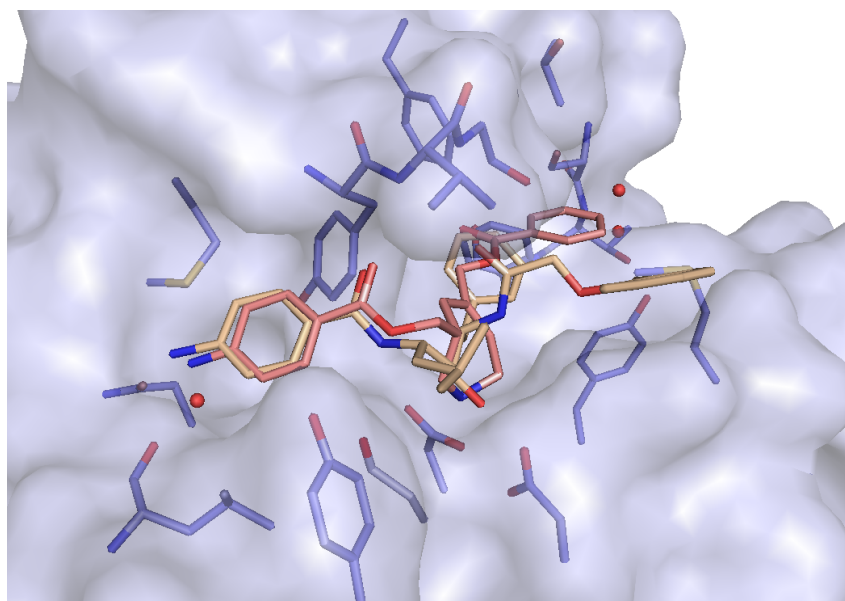


Abbildung 21: Überlagerung von RS370 mit *p*-Amino-substituierten Benzoessäureester des Azepin-Grundgerüsts. In Nachbarschaft befinden sich 3 Wassermoleküle, die Einfluß auf den Bindungsmodus nehmen können. Die Abbildung wurde mittels Pymol 0.99 erstellt.

Kombinatorisches Docken und anschließende Energie-Minimierung wurden ebenfalls für das Plm IV Homologie-Model durchgeführt, wobei die gleiche Bibliothek der Ligand-Kandidaten von Plm II verwendet wurde. Die Docking Ergebnisse zeigten sehr ähnliche Bindungsmodi und Präferenzen: Der Phenyl-Rest in Position 5 füllt die S_1 -Tasche auf eine ähnliche Art. Der P_2' -Substituent, d. h. das aromatische Ring-System ausgestattet mit Hydroxy- oder Amino-Gruppen an unterschiedlichen Stellen des Ringes, wurde ebenso hoch bewertet wie für das Isoenzym Plm II.

3.1. Synthese und biologische Testung der aus dem ersten Design-Zyklus hervorgegangenen Verbindungen

Die Inhibitoren des allgemeinen Strukturtyps **33** lassen sich ausgehend von *N*-Boc-2,3,4,7-tetrahydroazepin **21**, das nach S. Brass⁵⁸ in einer 7-stufigen Synthese mit einer Gesamtausbeute von 21% zugänglich ist, darstellen. Im Fall von unsymmetrisch substituierten Inhibitoren muss die Einführung der die Spezifitätstaschen adressierenden Substituenten nacheinander erfolgen: Durch Kondensation der primären Hydroxy-Gruppe mit einem aktivierten Säurederivat lässt sich zunächst der P_2' -Rest einführen (**44**). Selektive Abspaltung der TBDMS-Gruppe unter schwach sauren Bedingungen führt zum entsprechenden Hydroxymethyl-Derivat **45**, welches seinerseits wieder verestert wird **46**. Im letzten Syntheseschritt soll dann die Boc-Schutzgruppe abgespalten und damit die zur Adressierung der beiden katalytischen Aspartate essentielle Aminfunktionalität gebildet werden **47**. *Abbildung 22* veranschaulicht die geplante Synthesesequenz.

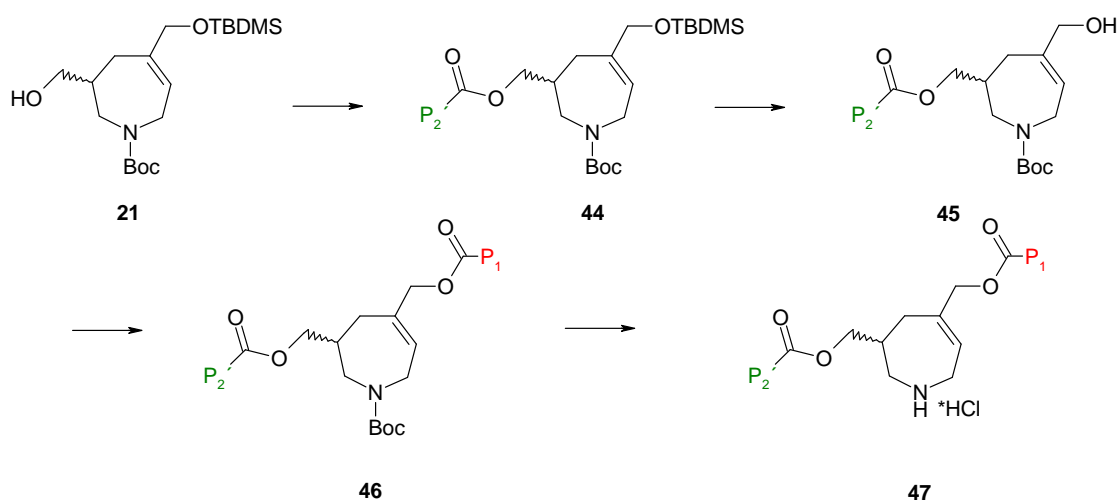


Abbildung 22: Geplante Synthesesequenz unsymmetrisch substituierter Inhibitoren.

Für die Darstellung symmetrisch substituierter Derivate scheint dieser obige Syntheseweg jedoch sehr umständlich und lang. Daher wurde zunächst eine Synthesesequenz entwickelt, die die effizientere Darstellung symmetrisch substituierter Derivate erlaubt. Als mögliches zentrales Synthesefragment wäre 3,5-Bis-hydroxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepin **51** sehr geeignet. Die Darstellung dieser Bis-hydroxymethyl-Verbindung gelingt in Analogie zu der von S. Brass entwickelten Sequenz, wie in *Abbildung 23* skizziert:

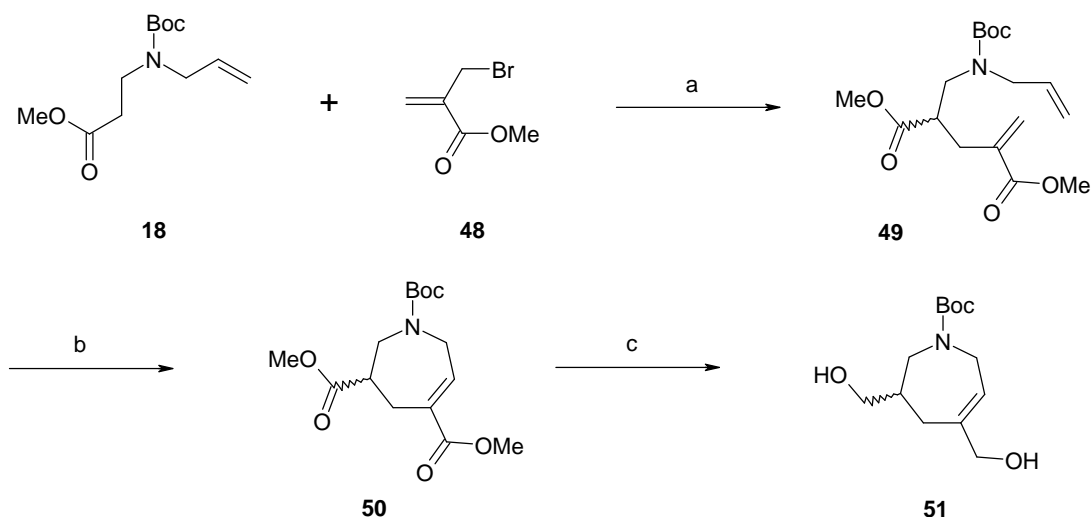


Abbildung 23: Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) LDA, DMPU, THF, -40°C, 4 h, 50%; (b) Grubbs II Katalysator 5 mol%, DCM, 40°C, 5 h, 84%; (c) DIBAL-H, THF, 4 h, 69%.

Ausgehend von dem Boc-geschützten Amin **18** wurde in α -Position mit dem Elektrophil **48** substituiert. Das Elektrophil **48** ist kommerziell erhältlich, wurde jedoch aufgrund des sehr hohen Kaufpreises, in einer zweistufigen Synthese mit sehr guten Ausbeuten, selbst dargestellt. Der erste Syntheseschritt basiert auf einer Baylis-Hillman-Reaktion von Acrylsäuremethylester und Formaldehyd. Der dabei entstandene α -hydroxymethylierte Acryl-ester **14** wurde anschließend durch entsprechende Bromierung in das gewünschte Elektrophil **48** überführt, wie in *Abbildung 24* dargestellt.⁵⁸

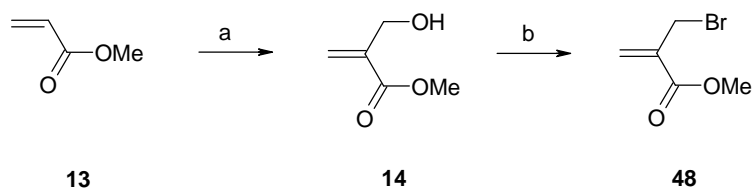


Abbildung 24: Zwei-stufige Synthese von 2-Bromomethylacrylsäuremethylester. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) H₂CO, DABCO, Dioxan/H₂O, 15 h, RT, 68%; (b) TPP/Br₂, Imidazol, DCM, 0°C, 0.5 h, 81%.

Bei der sich anschließenden Substitution des Elektrophils an das Boc-geschützte Amin diente als deprotonierendes Reagenz *in situ* zubereitetes LDA (Diisopropylamin und *n*-BuLi) und als Carbanionstabilisator das Harnstoff-Derivat DMPU. Auf diese Weise war es möglich, das Dien **49** in akzeptabler Ausbeute darzustellen.

Dieses wurde anschließend mit Grubbs II-Katalysator in die entsprechende zyklisierte Verbindung **50** überführt, was mit sehr guten Ausbeuten von weit über 80% gelang. Der so erhaltene Bis-Methyl-Ester **50** wurde im letzten Schritt durch Reduktion beider Ester-Funktionen mit DIBAL-H in den gewünschten Bis-Alkohol **51** überführt.

Durch das Vorhandensein des Startmaterials **18** war es möglich, in einer höchst effizienten, lediglich fünf Schritte benötigenden Synthesefolge, den gewünschten Bis-Alkohol **51** zur Synthese symmetrischer Inhibitoren zur Verfügung zu stellen in einer Gesamtausbeute von 16%.

Wenn man den in *Abbildung 22* dargestellten Syntheseweg verwendet, um zum entsprechenden Bis-Alkohol zu gelangen, liegt die Gesamtausbeute auch bei etwa 15%, jedoch sind insgesamt 8 Synthesestufen nötig.

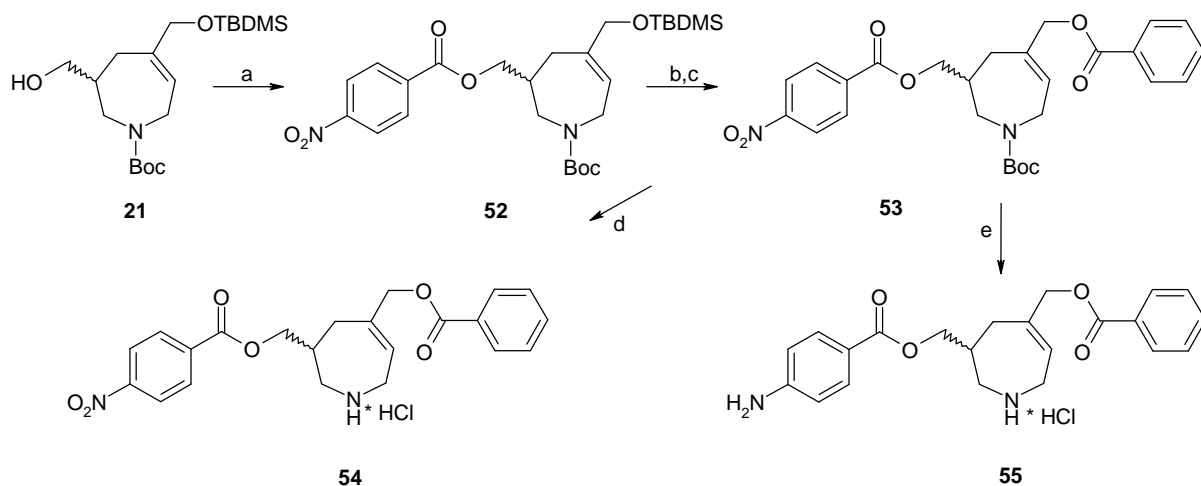


Abbildung 25: Synthese der *p*-Nitro- und *p*-Amino-substituierten Inhibitoren. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) *p*-Nitrobenzoesäure, THF/DCM, DIC; DMAP, 13 h, 71%; (b) 1% HCl_(aq) in THF, RT, 30 min, 77%; (c) Benzoylchlorid, DCM, TEA, DMAP, 18 h, 72%; (d) 2M HCl in Et₂O, RT, 24 h, 91%; (e) 1) SnCl₂·2H₂O in EtOAc, 80°C, 3 h, 2) 2M HCl in Et₂O, RT, 24 h, 48%.

Basierend auf der Design-Hypothese wurden zunächst die Reste **39** und **42** (siehe *Tabelle 2*) für die Synthese, die der in *Abbildung 24* aufgeführten Sequenz folgte, ausgewählt. Versuche *p*-Aminobenzoesäure (**42**) direkt mit dem Alkohol **21** zu verestern blieben jedoch, trotz Variation der Reaktionsbedingungen, erfolglos. Eine Ursache hierfür könnte die geringe

Reaktivität der Carbonsäure, die als phenyloge Carbaminsäure aufgefasst werden kann, sein. Deshalb wurde im weiteren Verlauf *p*-Nitrobenzoesäure als Synthesynthon verwendet. Die Reduktion der Nitrogruppe erfolgte mit Sn(II)Cl₂ unter gleichzeitiger Abspaltung der Boc-Schutzgruppe im letzten Syntheseschritt (*Abbildung 25*). Zusätzlich wurde die Synthesestufe **53** direkt entschützt und lieferte somit den *p*-Nitro-phenyl-substituierten Inhibitor **54**.⁶⁷

Analog dieser Synthesesequenz wurden sowohl 3-Hydroxy-4-nitro-benzoesäure **56** als auch 2-Hydroxy-4-nitro-benzoesäure **57** als Synthesynthone eingesetzt.

Leider blieben Versuche sowohl 3-Hydroxy-4-nitro-benzoesäure als auch 2-Hydroxy-4-nitro-benzoesäure mittels Standard-Kupplungs-Bedingungen unter Verwendung von DIC in gewünschter Weise zur Reaktion zu bringen erfolglos. Aktivierung der Säuren als ihre Säurechloride als auch die Kupplung unter Mitsunobu-Bedingungen führten nicht zum gewünschten Erfolg.

Eine Begründung dafür, dass es nicht möglich war unter Mitsunobu-Bedingungen das gewünschte Produkt zu erhalten, könnte in den pK_s -Werten der phenolischen Hydroxy-Funktionen von **56** und **57** liegen (*Abbildung 26*). Bei der Mitsunobu-Reaktion ist das Nukleophil relativ acid (p*K_s* ≤ 15). Finden Sauerstoffnukleophile wie Carbonsäuren Verwendung, bilden sich unter Mitsunobu-Bedingungen Ester, im Fall von Phenolen Ether. Es lässt sich von daher vermuten, dass die phenolischen OH-Gruppen in Konkurrenz zur Carboxyl-Funktionalität stehen und so zu einem komplexen Reaktionsverlauf beigetragen haben.

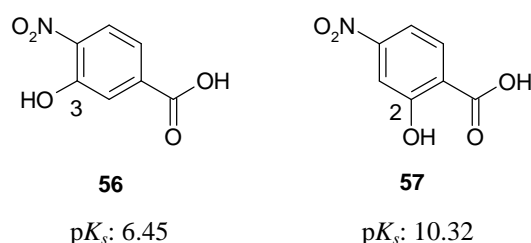


Abbildung 26: pK_s -Werte von 3-Hydroxy-4-nitro-benzoesäure und 2-Hydroxy-4-nitro-benzoesäure.

Alternativ wurde deshalb versucht, die entsprechende Boc-geschützte 2-Methoxy-4-amino-benzoesäure darzustellen. Nach Ether-Spaltung und Boc-Entschützung konnte die gewünschte Verbindung jedoch leider nicht isoliert werden.

Als Referenzverbindung wurde zusätzlich der schon von S. Brass charakterisierte Bisphenylester **59** nach der in *Abbildung 22* skizzierten neuen Synthesesequenz dargestellt. Ausgehend von dem Bisalkohol **51** gelang die Darstellung in 2 Schritten: Veresterung mit Benzoylchlorid und anschließende Abspaltung der *N*-Boc-Schutzgruppe mit trockener HCl in Diethylether.

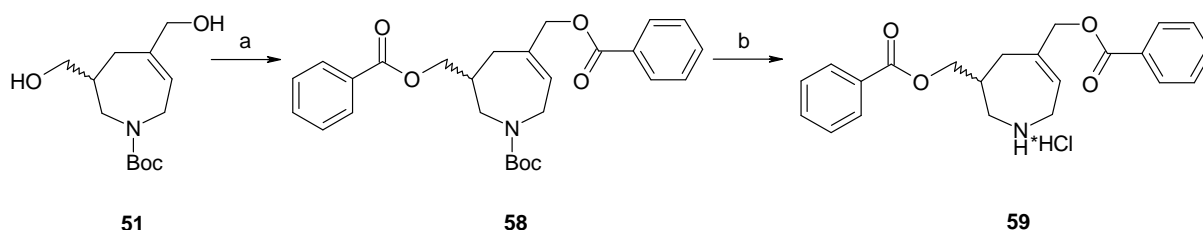


Abbildung 27: Darstellung des Bisphenylester **59**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) Benzoylchlorid, DCM, TEA, DMAP, 14 h, 75%; (b) HCl/Diethylether, RT, 14 h, 75%.

Die Verbindungen wurden von T. Luksch auf ihre Aktivität gegenüber Plm II, Plm IV und der verwandten humanen Aspartyl-Protease Cathepsin D getestet. Die entsprechenden K_i -Werte sind in *Tabelle 3* wiedergegeben.

<div style="text-align: right;">60</div>					
Nummer	R ¹	R ²	K_i [μM] Plm II	K_i [μM] Plm IV	K_i [μM] Cat D
59			303	211	>>320
54			28,8	38,6	348
55			4,7	7,2	260

Tabelle 3: Experimentell bestimmte Aktivität der Inhibitoren.

Verbindung **55** zeigte einen K_i -Wert von 4,7 μM für Plm II und 7,2 μM für Plm IV. In Übereinstimmung mit unseren Modelling-Studien ist hier die Bedeutung der Amino-Gruppe in *para*-Position am Aromaten des Restes R^1 als Wasserstoff-Brücken-Donor zu erkennen. Bei Verbindung **59**, die diese Amino-Gruppe nicht besitzt, ist eine 60-fache Abnahme der Affinität zu verzeichnen. Verbindung **54**, die statt des *p*-Aminobenzoyloxymethyl-Substituenten in Position 3 des Azepin-Grundgerüsts einen *p*-Nitrobenzoyloxymethyl-Substituenten trägt, zeigte überraschend niedrige K_i -Werte für Plm II und IV (28,8 bzw. 38,6 μM). Diese Verbindung war somit deutlich aktiver als der nur mit zwei Phenyl-Resten substituierte Inhibitor **59**, obwohl sie im Docking eine wesentlich schlechtere Bewertung erhalten hatte. Der Dockingvorhersage folgend sollte die Nitro-Gruppe des *p*-Nitrobenzoyloxymethyl-Restes mit dem Amid-Sauerstoff der Seitenkette von Asn 39 in der S_2' -Tasche zu ungünstigen Wechselwirkungen führen. Auf der Suche nach möglichen Erklärungen für dieses unerwartete Ergebnis wurden MD (molecular dynamics)-Simulationen des nicht komplexierten Proteins durchgeführt. Entlang der Trajektorie konnte eine erhöhte Flexibilität der Seitenkette von Asn 39 in der S_2' -Tasche beobachtet und ein weiteres energetisch günstiges Konformer entdeckt werden. In dieser zweiten Konformation ist der $N\chi_2$ Winkel des Asn 39 um 180° gedreht. Unter Verwendung dieses Konformers lässt sich die überraschend gute Affinität von **54** begründen: Die *p*-Nitro-Gruppe des P_2' -Substituenten verdrängt HOH546 und bildet eine direkte Wasserstoff-Brücke zur terminalen Carboxamid NH-Gruppe des rotierten Asn 39-Restes.

In einem zweiten Design-Zyklus erfolgte nun die weitere Optimierung des P_1 -Substituenten. Als P_2' -Substituent wurde nun der *p*-Aminobenzoyloxymethyl-Substituent beibehalten. Ganz analog wurde nun wiederum ein kombinatorisches Docking mit FlexX^c durchgeführt, gefolgt von einem Energie-Minimierungs-Schritt.

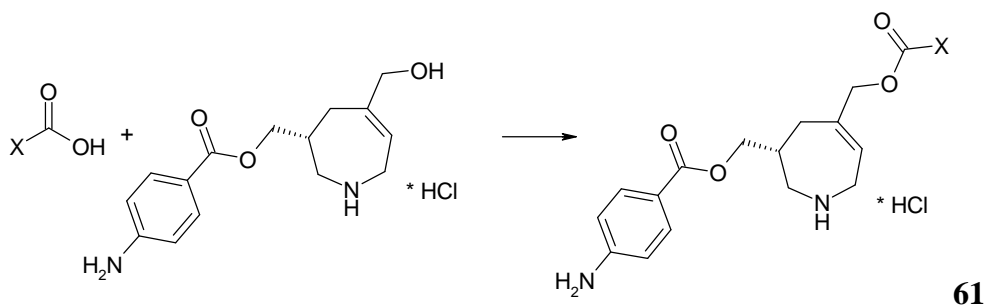


Abbildung 28: Optimierung des P_1 -Substituenten mittels Docking.

Generell wurden hier vor allem Lösungen für den P₁-Substituenten mit einerseits mehreren rotierbaren Bindungen oder andererseits mit peptidischem Charakter sehr hoch bewertet. Um diese unerwünschten Lösungen zu umgehen, wurde ein zusätzlicher Filter verwendet, der nur Substituenten erlaubt, die keine Amid-Bindung tragen und nur eine begrenzte Anzahl rotierbarer Bindungen aufweisen. Nach visueller Sichtung wurden von den so erhaltenen Substituenten-Vorschlägen zum einen ein 1*H*-Indolyl-3-methyl-Substituent, der in der Lage sein sollte, eine Wasserstoff-Brücke zu Ser 218 auszubilden (*Abbildung 29b*), zum anderen sterisch anspruchsvollere hydrophobe Gruppen, wie ein Naphthyl-Rest, der ebenfalls hoch bewertet wurde, ausgewählt. Nach der überraschend hohen Affinität des *p*-Nitrobenzoyloxymethyl-Derivats **54** wurden zusätzlich jeweils die entsprechenden Nitro-Derivate dargestellt. Die Synthese erfolgte analog zu der von **54** und **55** (*Abbildung 25*). *Tabelle 4* gibt einen Überblick über die gemessenen Affinitäten dieser 2. Serie von Inhibitoren.

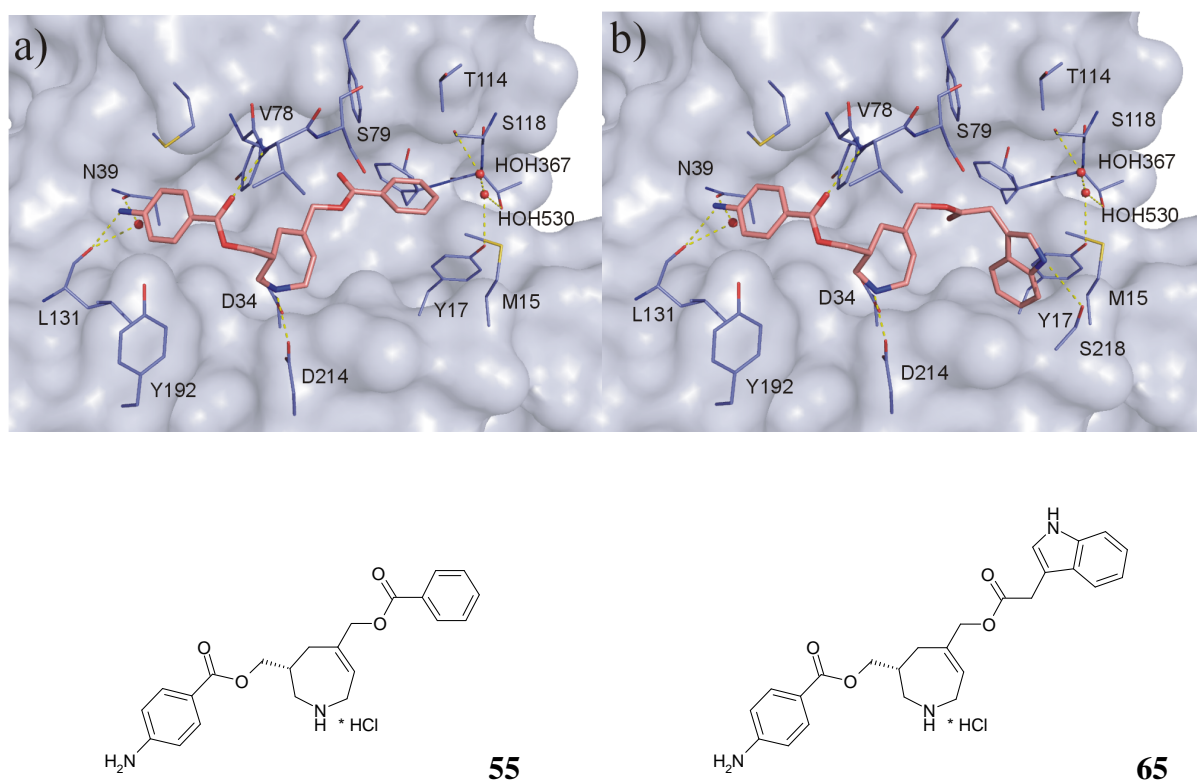


Abbildung 29: Minimierter Docking-Lösung von a) **55** und b) **65** in 1LF2. Die Proteinoberflächen sind in blau dargestellt, beide Liganden lachsfarben, farbcodiert nach Atom-Typen. Die Abbildungen wurden mittels Pymol 0.99 erstellt.

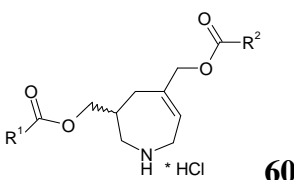
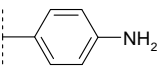
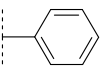
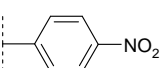
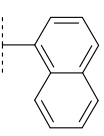
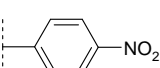
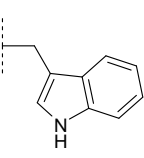
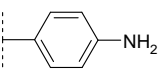
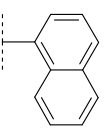
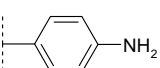
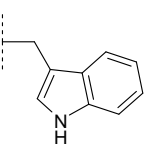
					
Nummer	R ¹	R ²	K _i [μM] Plm II	K _i [μM] Plm IV	K _i [μM] Cat D
55			4,7	7,2	260
62			4,7	43,4	>100
63			1,3	3,9	51
64			2,4	15,9	>100
65			1,0	1,5	262

Tabelle 4: Experimentell bestimmte Aktivität der Inhibitoren.

Verglichen mit dem Phenyl-Derivat **55**, weisen beide Inhibitoren, d.h. das 3-Indolyl-Essigsäure substituierte Derivat **65** als auch das Naphthyl-Derivat **64** eine verbesserte Bindungsaffinität zu Plm II auf. Bezüglich Plm IV zeigt nur der Indolyl-Inhibitor **65** eine Erhöhung der Affinität, das Naphthyl-Derivat **64** verliert etwas an Affinität. Wie auch schon im ersten Designzyklus beobachtet, zeigen beide Nitro-Derivate **63** und **62** im Vergleich zu **54** eine Verbesserung der Bindungsaffinität gegenüber Plm II. Im Fall von Plm IV zeigt **63** eine höhere Affinität, die Aktivität von **62** bleibt nahezu unverändert.

Basierend auf diesen Ergebnissen, stiegen wir in einen dritten Design-Zyklus ein. Der durch Molecular Modelling ermittelte Bindungs-Modus von **55** oder **62** legte nahe, entweder einen polaren Substituenten in *p*-Position des Phenyl-Rings oder in Position 2 des Naphthyl-Rests in Position 5 des Azepin-Grundgerüsts einzufügen. Solche Substituenten sollten in der Lage sein mit benachbarten Wassermolekülen, die in der Kristallstruktur mit RS370 enthalten sind, wechselzuwirken (vgl. *Abbildung 21*). Die entsprechenden Inhibitoren wurden analog dem bisherigen Syntheseweg dargestellt. *Abbildung 30* gibt einen Überblick über die im 2. und 3. Designzyklus dargestellten Verbindungen.

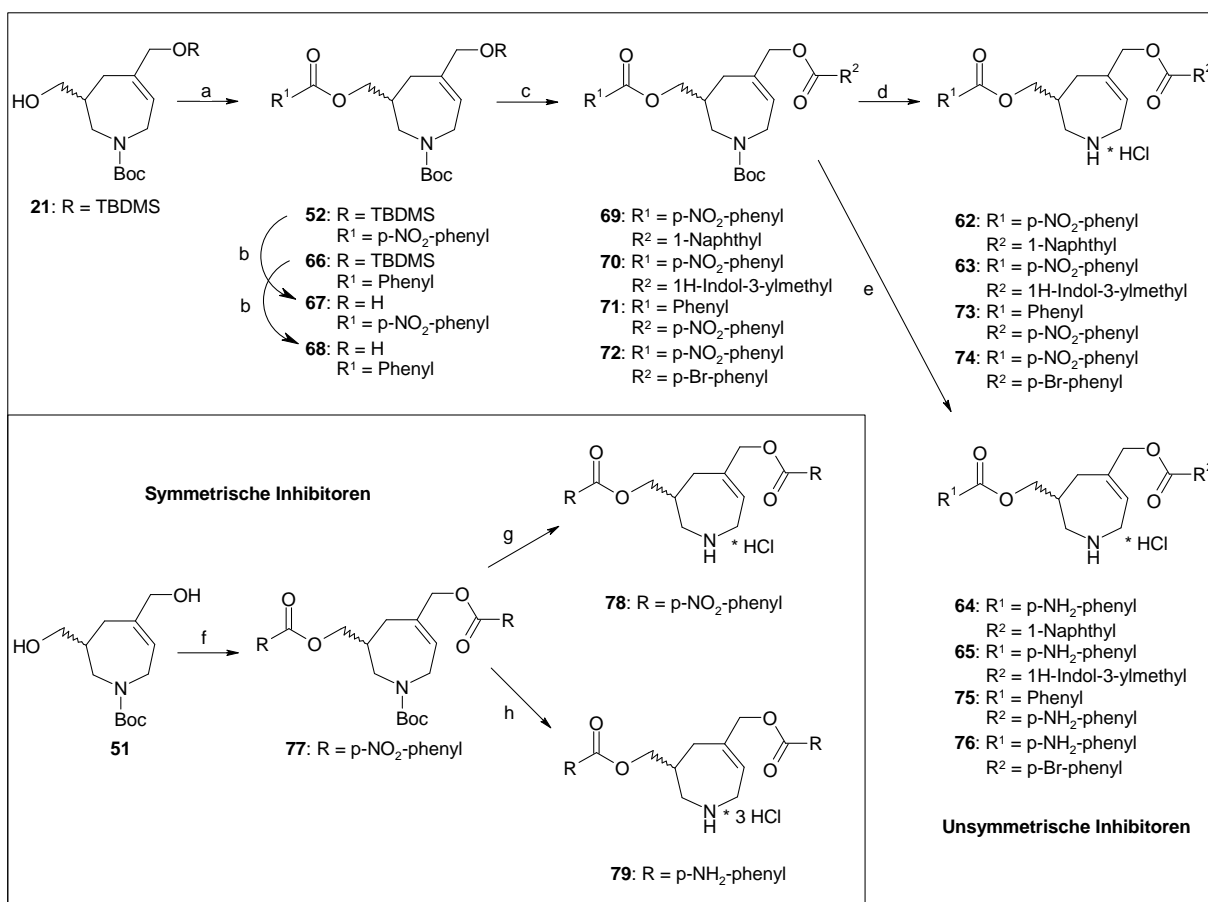
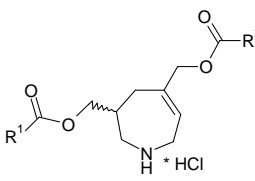
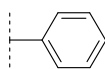
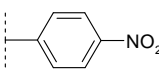
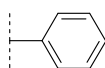
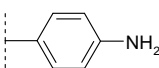
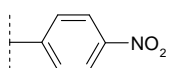
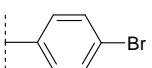
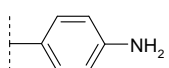
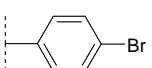
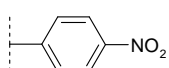
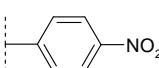
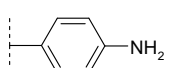
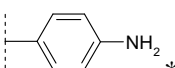


Abbildung 30: Schematische Darstellung der Synthese der Inhibitoren **62-65**, **73-76**, **78-79**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) für **52** *p*-Nitrobenzoesäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 12 h, 71%; für **66**: Benzoylchlorid, DCM, TEA, DMAP, 18 h, 72%; (b) 1% HCl_(aq) in THF, RT; für **67**: 30 min, 77%; für **68**: 30 min, 90%; (c) für **69**: Naphthoesäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 18 h, 44% ; für **70**: 3-Indolessigsäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 14 h, 84%; für **71**: *p*-Nitrobenzoesäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 18 h, 65%; für **72**: *p*-Brombenzoesäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 14 h, 58%; (d) 2M HCl in Et₂O, RT, 24 h; für **62**: 91%; für **63**: 85%; für **73**: 88%; für **74**: 94%; (e) 1) SnCl₂·2H₂O in EtOAc, 80°C, 3 h, 2) 2M HCl in Et₂O, RT, 24 h; für **64**: 73%; für **65**: 52%; für **75**: 70%; für **76**: 47%; (f) *p*-Nitrobenzoesäure, THF/DCM, DIC, DMAP, 13 h, 69%; (g) 2M HCl in Et₂O, RT, 24 h, 96%; (h) 1) SnCl₂·H₂O in EtOAc, 80°C, 3 h, 2) 2M HCl in Et₂O, RT, 24 h, 59%.

Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden zunächst **73** und **75**, welche nur eine entsprechende *p*-Nitro- oder *p*-Amino-Gruppe in dieser Position aufweisen, dargestellt. In Übereinstimmung mit der Vorhersage zeigten beide Verbindungen bessere Affinitäten als **59**.

Auch hier war die entsprechende *p*-Amino-Verbindung **75** wieder affiner als die *p*-Nitro-Verbindung **73**. Der „Kombinations-Inhibitor“ **79**, der nun sowohl in Position 3 des Azepin-Grundgerüsts, als auch in Position 5 eine *p*-Amino-Phenyl-Gruppe trägt, zeigte wiederum eine deutliche Verbesserung und weist eine Bindungsaffinität im nanomolaren Bereich auf. Verbindung **74** und **76** wurden mit einem polarisierbaren Brom-Substituenten an dieser Position ausgestattet. Bei Verbindung **74** konnte keine Verbesserung der Bindungs-Affinität innerhalb des Messfehlerbereichs des Assays beobachtet werden. Bemerkenswert bei **76** ist, dass eine Affinitäts-Verbesserung bezüglich Plm IV nicht beobachtet werden konnte, wohl aber gegenüber Plm II.

Allgemein lässt sich sagen, dass für Plm IV hier vergleichbare Tendenzen festgestellt werden konnten wie für Plm II. Unsere anfängliche Hypothese, dass Plm IV eine Konformation mit einer teilweise offenen Bindetasche einnehmen kann, wie schon bei Plm II beobachtet (1LF2) wurde, konnte somit weiter erhärtet werden.

 60					
Nummer	R ¹	R ²	K _i [μM] Plm II	K _i [μM] Plm IV	K _i [μM] Cat D
73			28,8	29,0	285
75			7,6	9,9	255
74			49,0	68,8	178
76			0,4	5,7	165
78			10,9	22,1	21
79			0,8	3,2	142

* * 3HCl

Tabelle 5. Experimentell bestimmte Aktivität der Inhibitoren **73-76; 78-79**.

3.2. Trennung der Enantiomeren

Wie schon erwähnt, werden die Inhibitoren als racemisches Gemisch erhalten. Da im Docking das entsprechende *R*-Enantiomer das bevorzugte ist, sollte, um diese Aussage zu verifizieren, eine Trennung der Enantiomere durchgeführt und im Anschluss die Affinitäten jedes einzelnen Enantiomers bestimmt werden. In Zusammenarbeit mit der Merck KGaA wurde daher versucht, die Verbindungen **76**, **62** und **63** zu trennen. Leider konnte nur für Verbindung **62** eine analytische Methode (Trennung auf der Basislinie) entwickelt werden.

Chromatographische Bedingungen:

Säule: Chiralcel OD-H (4.6 x 250 mm)

Eluent: 40% MeOH + 0.5% DEA in CO₂ (SFC)

Unglücklicherweise zersetzte sich Verbindung **62** während der präparativen Trennung [Säule: Chiralcel OD-H (10 x 250 mm); Eluent: 30% MeOH + 0.5% DEA in CO₂ (SFC)], so dass die Trennung des racemischen Gemisches leider erfolglos verlief.

Da die Darstellung der Enantiomere über eine stereoselektive Synthese sehr aufwendig ist, soll diese erst in Angriff genommen werden, sobald z. B. durch Röntgenstrukturanalyse die Konfiguration des aktiven Enantiomers eindeutig aufgeklärt wurde.

3.3. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es in einem mehrfach durchlaufenen Designzyklus gelungen ist, durch strukturelle Modifizierungen der anfänglichen Leitstruktur die Affinität der dargestellten Inhibitoren bis in den nanomolaren Bereich hinein zu optimieren. Im Vergleich zu der nur mit zwei Phenylringen substituierten Verbindung **59** konnte die Affinität der auf einem Azepin-Gerüst basierten Verbindungen in drei Design-Zyklen um den Faktor 700 für Plm II bzw. den Faktor 140 für Plm IV gesteigert werden. Die experimentell bestimmten K_i -Werte der Inhibitoren stehen im Großen und Ganzen im Einklang mit den Vorhersagen. Nur im Fall der *p*-Nitro-Derivate wich die Vorhersage zunächst deutlich von den bestimmten Affinitäten ab, ein Umstand, der jedoch durch eine induzierte Anpassung, die sich in einer MD-Simulation abzeichnet, erklärt werden konnte.

Die gemessenen Affinitäten für Cathepsin D liegen überwiegend im mittleren dreistelligen mikromolaren Bereich, womit eine gewisse Selektivität der hier synthetisierten Verbindungen für Plm II und IV erreicht werden konnte. Beachtenswert ist vor allem, dass Verbindung **65** Plm II und Plm IV gleichermaßen gut inhibiert und zudem Selektivität zum humanen Cathepsin D aufweist. Da die in diesem Kapitel vorgestellten Inhibitoren nur zwei Spezifitätstaschen adressieren, jedoch schon Aktivität im nanomolaren Bereich besitzen, soll unsere Leitstruktur durch Einführung weiter die Spezifitätstaschen adressierenden Substituenten und Variation der Länge des Akzeptor-Abstandes weiter optimiert werden, was in den folgenden Kapiteln näher erläutert wird.

4. Synthese 3,5-disubstituierter-Tetrahydro-1*H*-azepin-Derivate mit verkürztem Akzeptor-Abstand

Vergleicht man die von FlexX^c generierte Dockinglösung der Verbindung **76** in der Kristallstruktur von Plasmepsin II (1LF2) mit einer von GOLD generierten Lösung desselben Inhibitors in der Aspartyl-Protease Pepsin (1PSO)⁷², so erhält man im Großen und Ganzen den selben Bindungsmodus:

In beiden Fällen nimmt der protonierte Stickstoff die zentrale Position zwischen den beiden katalytischen Aspartaten ein und die Taschenbesetzung ist analog.

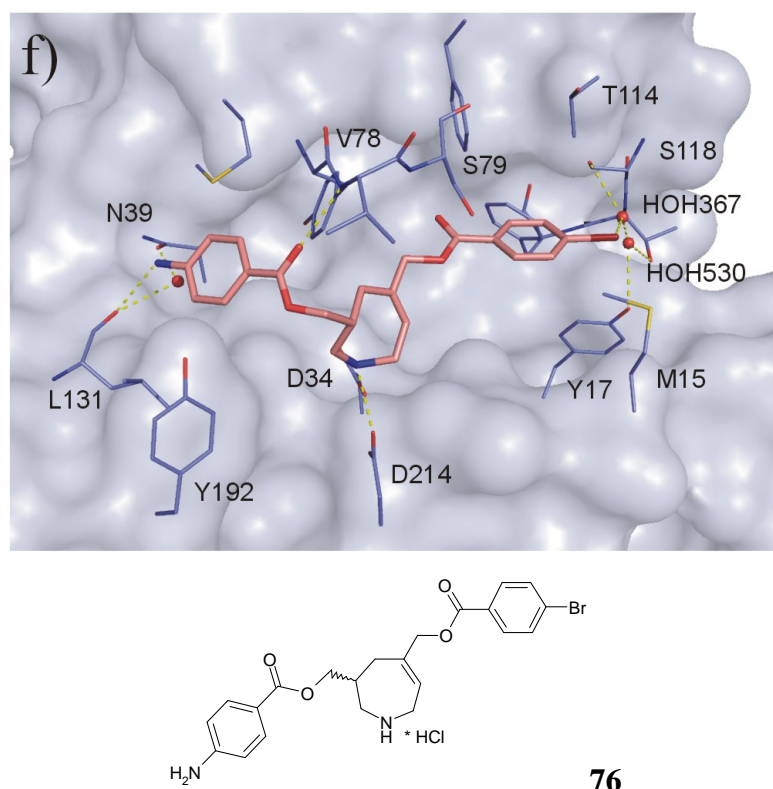


Abbildung 31: Docking-Lösung des *R*-Enantiomers von **76** (Sticks lachsfarben, farbcodiert nach Atom-Typen) in der Kristallstruktur 1LF2 (blau) des Plm II. Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

Überlagert man nun die Docking-Lösungen mit den jeweiligen in der Kristallstruktur enthaltenen Liganden, so zeigt sich im Fall von 1LF2, dass die Position der Akzeptorgruppen in der S₂'-Tasche nahezu identisch ist, die Positionierung in der S₁-Tasche jedoch nicht optimal zu sein scheint (vgl. Abb. 21, Kapitel 3).

⁷² Fujinaga, M., Chernaia, M.M., *Protein Sci.* **1995**, 4, 960.

Für 1PSO ergibt sich ein anderes Bild: Hier kommen die Akzeptorgruppen des Inhibitors und die des Liganden Pepstatin in der S_2' -Tasche zwar auch aufeinander zu liegen, jedoch kann der Inhibitor keine Wasserstoff-Brücken zum Protein ausbilden im Vergleich zu Pepstatin, der eine Wasserstoff-Brücke zu Tyr 189 formt (vgl. Abb. 32).

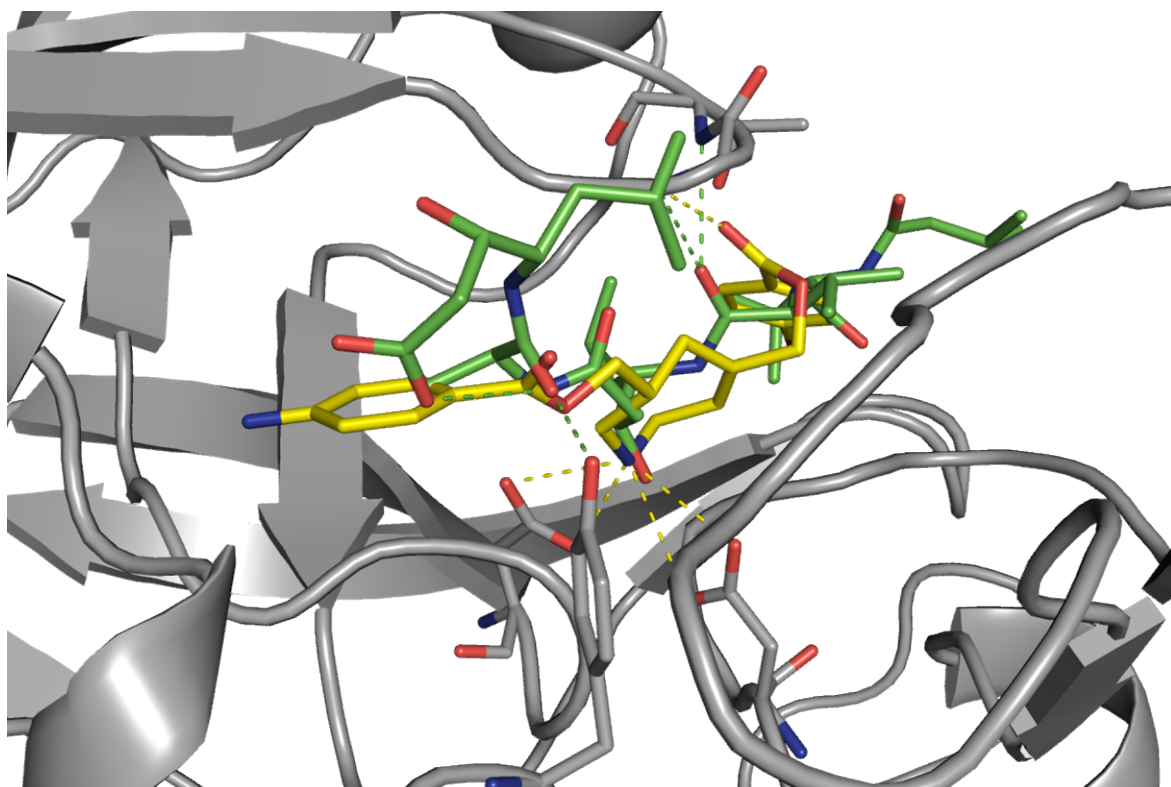
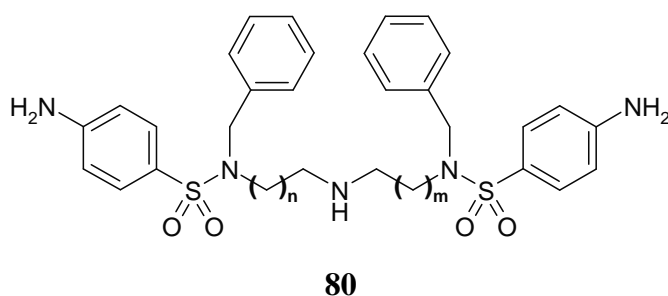


Abbildung 32: Kristallstruktur 1PSO (schematischer Verlauf der Polypeptidkette ist in grau wiedergegeben) im Komplex mit Pepstatin (Sticks in grün, farbcodiert nach Atom-Typen) und Übereinanderlagerung des *R*-Enantiomers von **76** (Sticks in gelb, farbcodiert nach Atom-Typen). Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

In der S_1 -Tasche scheint die Positionierung der Carbonyl-Funktionalität des Esters günstiger zu sein: Zwar ist auch hier der räumliche Abstand der beiden Akzeptor-Funktionalitäten unterschiedlich, eine Wechselwirkung zum Flap ist jedoch auch im Fall des Inhibitors möglich. Dieser adressiert den Stickstoff und den Sauerstoff von Tyr 77 während Pepstatin nur Wasserstoff-Brücken zum Stickstoff von Tyr 75 und Tyr 77 ausbildet.

Dass die Plasmepsine eine gewisse Toleranz hinsichtlich des Abstandes der den Flap-Bereich adressierenden Akzeptor-Funktionen zeigen, konnten wir in unserem Arbeitskreis kürzlich zeigen. Es ist gelungen, eine kleine Bibliothek achiraler Oligoaminen aufzustellen, die sich durch unterschiedliche Linker-Längen auszeichnen.⁶⁶



Nummer	n	m	Plm II	Plm IV
81	1	1	4,2 μ M	7,5 μ M
82	1	2	22 μ M	7,5 μ M
83	2	2	2,8 μ M	22 μ M

Tabelle 6: K_i -Meßwerte ausgewählter Oligoamine von Blum et al.⁶⁶

Tabelle 6 gibt einige Beispiele mit Bindungsdaten wieder, die die Toleranz hinsichtlich der Linker-Längen verdeutlicht. Es ist zu erkennen, dass Inhibitor **83** mit 2,8 μ M die höchste Affinität in Bezug auf Plm II zeigt, die analogen Verbindungen mit kürzeren Linker-Längen (**81** und **82**) besitzen dagegen die höchste Affinität zu Plm IV.

Vergleicht man den Abstand der den Flap-Bereich adressierenden Carbonyl-Funktionen der Liganden RS370 (1LF2) und Pepstatin (1PSO) mit der Docking-Lösung des Inhibitors **76**, so zeigt sich, dass in diesem Inhibitor der Abstand dieser beiden Akzeptor-Gruppen deutlich vergrößert ist. In RS370 und in Pepstatin liegt der Abstand der Carbonyl-Funktionalitäten in etwa bei 4 Å, während der in **76** bei über 7 Å liegt.

Es scheint von daher sinnvoll, die Carbonyl-Gruppen in den Azepinen dichter an das zentrale Ringsystem zu platzieren, um so eine Erhöhung der Bindungs-Affinität zu erzielen. Wie aus *Abbildung 32* und *33* hervorgeht, sollte sich demzufolge eine „Verschiebung“ der Carbonyl-Funktion in Position 3 des Ringsystems als besonders lohnenswert erweisen.

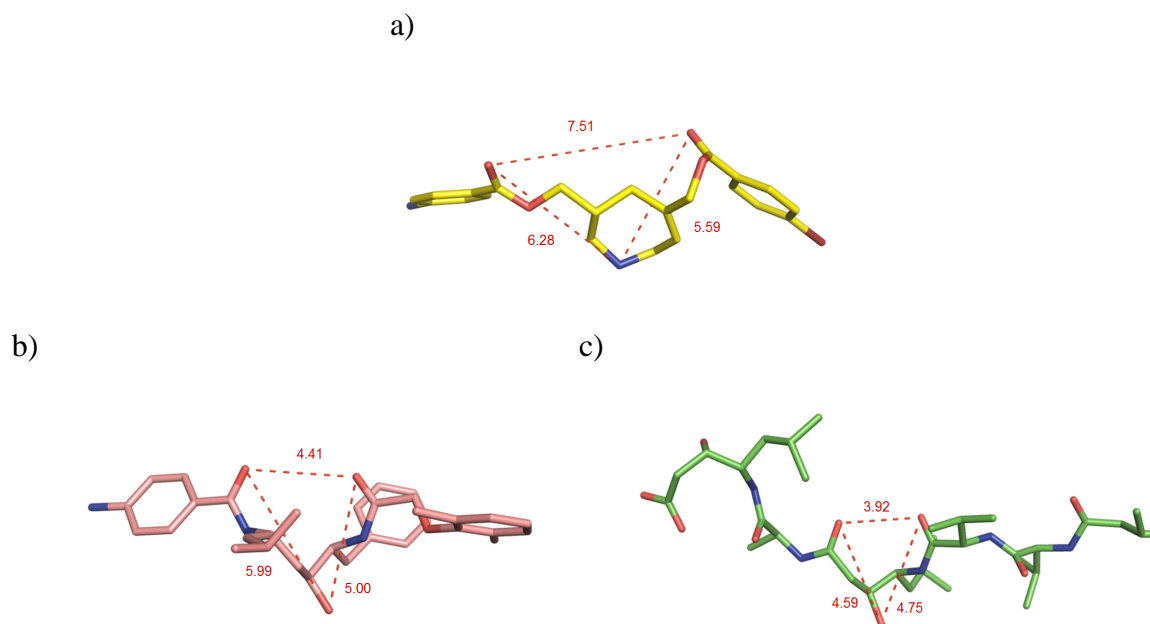


Abbildung 33: (a) Akzeptor-Abstände in **76** (Sticks in gelb, farbcodiert nach Atom-Typen) in Å. (b) Akzeptor-Abstände in RS370 (Sticks in rosa, farbcodiert nach Atom-Typen) in Å. (c) Akzeptor-Abstände in Pepstatin (Sticks in grün, farbcodiert nach Atom-Typen) in Å. Die Abbildungen wurden mittels Pymol 0.99 erstellt.

Neben der Verkürzung des Carbonyl-Abstands sollte die Synthese auch die Einführung zusätzlicher Substituenten, die die S_1' - bzw. S_2 -Spezifitätstasche adressieren, erlauben.

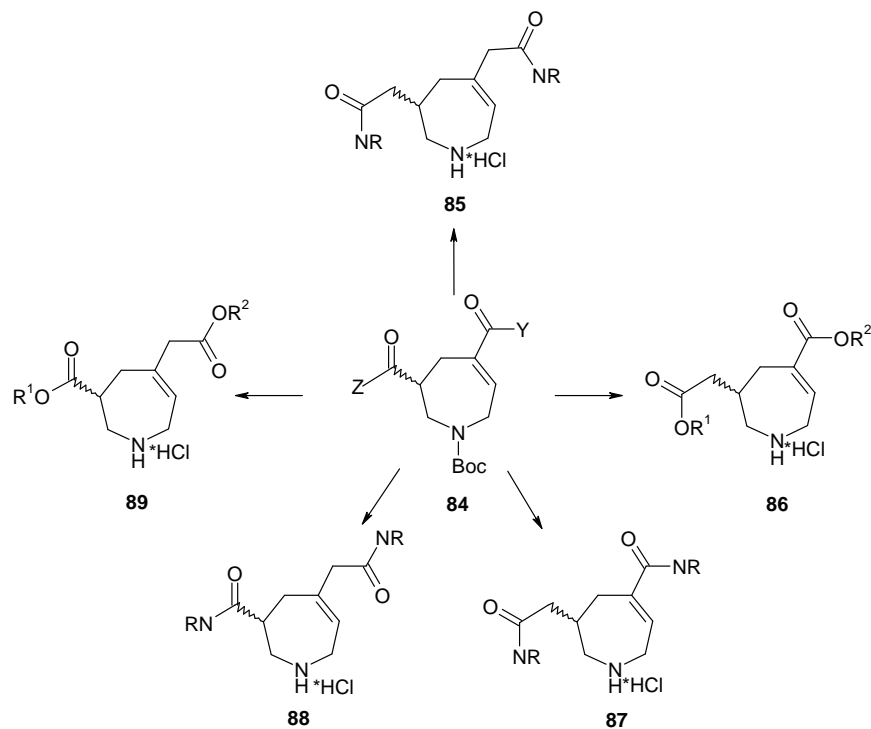


Abbildung 34: Darstellung der Diversität des Azepin-Grundgerüsts in Bezug auf die unterschiedliche Seitenkettendekoration.

Ziel war es nun also zunächst ein Synthesesynton zu wählen, dass es ermöglichen würde, unterschiedliche Inhibitor-Grundstrukturen aus einer gemeinsamen Vorstufe darzustellen, wie in *Abbildung 34* gezeigt. Darüber hinaus sollten, wenn möglich, bereits optimierte Vor- und Zwischenstufen verwendet werden. Zusätzlich sollte die Syntheseroute es ermöglichen, Inhibitoren darzustellen, die den ursprünglichen Carbonyl-Abstand aufweisen. Die Synthese von Inhibitoren mit dem ursprünglichen Carbonyl-Abstand ist hier deshalb von Interesse, da man bei ansonsten gleicher Seitenkettendekoration der Inhibitoren somit eine Aussage darüber treffen kann, welchen Einfluss die Variation des Carbonyl-Abstands auf die Bindungsaffinität der Inhibitoren hat.

4.1. Auswahl eines geeigneten Synthesesyntons

Als mögliche zentrale Synthesezwischenstufen zur Darstellung der neuen Inhibitoren kämen sowohl **20** als auch **50** zunächst in Betracht.

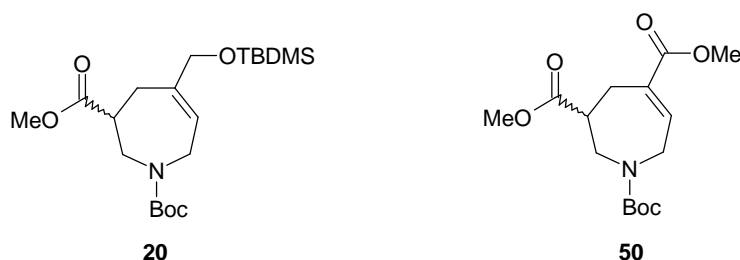


Abbildung 35: Zentrale Synthesezwischenstufen **20** und **50**.

Bei **20** handelt es sich um die Synthesevorstufe des 5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydroazepin-1,3-dicarbonsäure-1-*tert*-butyl-3-methylesters, der für die Darstellung der in *Kapitel 3* beschriebenen Inhibitoren diene. Spaltung des Methylesters unter basischen Bedingungen führt zur freien Carbonsäure **90**, die sich sowohl mit Alkoholen als auch mit primären und sekundären Aminen jeweils unter Standardbedingungen zu den entsprechenden Estern **91** bzw. Amiden **92** umsetzen lässt. Nach Abspaltung der TBDMS-Schutzgruppe (**93** und **94**) lässt sich dann die entstandene Hydroxymethylen-Funktionalität ebenfalls derivatisieren zu **95a** und **95b**.

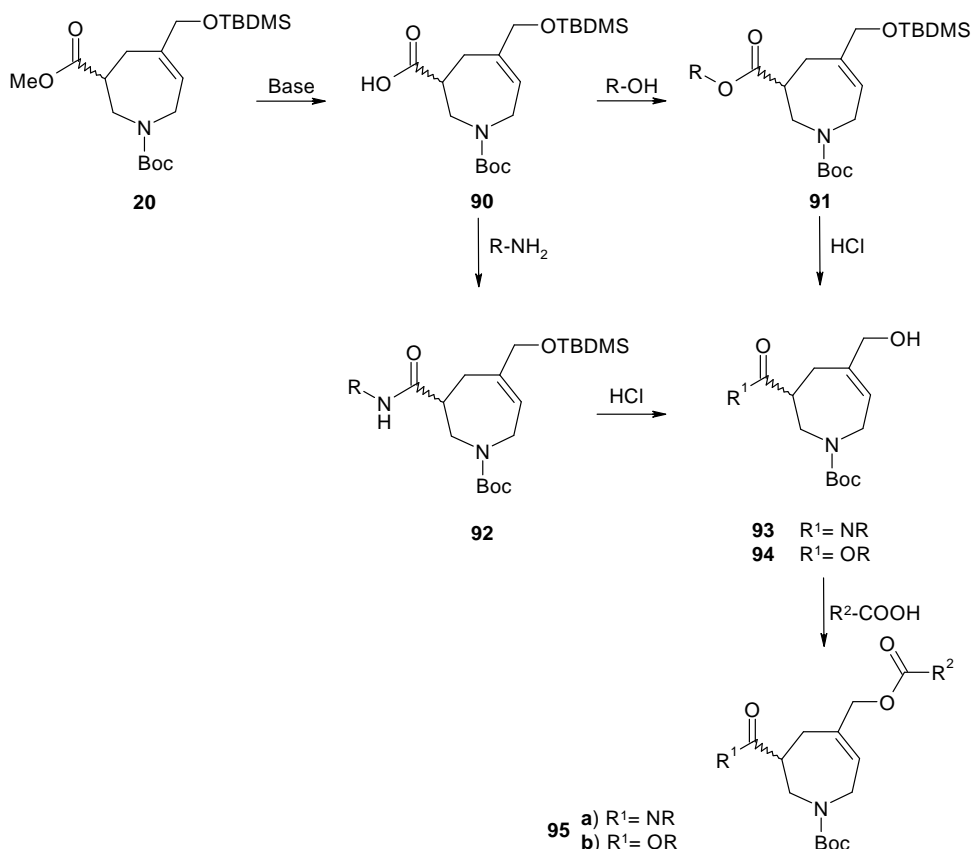


Abbildung 36: Synthesesequenz zur Darstellung 3,5-disubstituierter-Tetrahydro-1*H*-azepin-Derivate mit verkürztem Akzeptor-Abstand in Position 3.

Die Verschiebung des Carbonylesters in Position 5 des Ringsystems ist durch einfachen Austausch des in der bisherigen Synthese verwendeten Elektrophils möglich und wurde schon bei der Darstellung des Bisesters **50** erfolgreich durchgeführt.

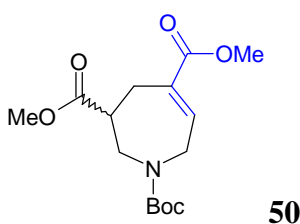


Abbildung 37: 3,5-Bis-methylester der Azepin-Grundstruktur.

Spaltung der Methylester-Funktionalitäten dieses Synthesebausteins führt zur Dicarbonsäure, die sich wiederum unter Standardbedingungen zu entsprechenden Estern⁷³ bzw. Amiden^{74,75} umsetzen lassen. Die Reaktion von primären Aminen mit Acrylsäure oder auch Acrylsäurechloriden führt zu den entsprechenden Amiden und ist in der Literatur bekannt. Die Um-

⁷³ Murtagh, J.E. et al., *Chem. Commun.* **2005**, 227-229.

⁷⁴ Kim, H.M. et al., *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 2737-2741.

⁷⁵ Kim, H.M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *Lett.* 17, 6234-6238.

setzung der α - β -ungesättigten Ester-Funktionalität in **50** mit Aminen würde jedoch zum entsprechenden Michael-Addukt führen.

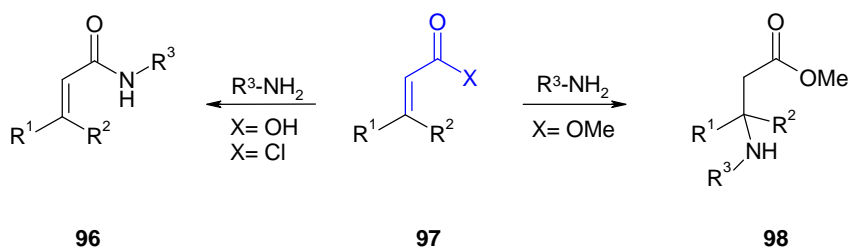


Abbildung 38: Amidbildung aus Acrylsäure oder Acrylsäurechloriden und Michael-Addukt aus Methylestern.

Die Verwendung der Dicarbonsäure bietet jedoch dieser Sequenz folgend nur die Möglichkeit zur Synthese „symmetrisch“ substituierter Inhibitoren. Es wäre jedoch wünschenswert, wenn die Zwischenstufe eine unabhängige Einführung der die Spezifitätstaschen adressierenden Reste erlauben würde.

Vor diesem Hintergrund scheint als zentrale Zwischenstufe ein in Position 3 mit einem 2-Oxazolidinon und in Position 5 mit einem Methylester derivatisiertes Azepin eine geeignete Vorstufe zu sein. Durch die Verwendung eines Evans-Auxiliars ließen sich die Azepin-Derivate auch in enantiomerenreiner Form darstellen. Dies erscheint jedoch erst dann sinnvoll, wenn durch eine Röntgenstruktur eines Inhibitor-Enzymkomplexes die Konfiguration des stereogenen Zentrums eindeutig belegt ist.

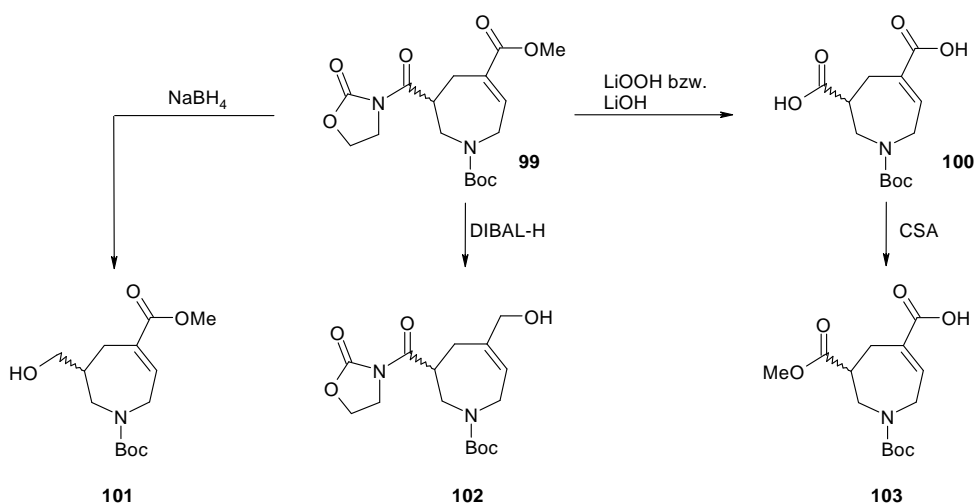


Abbildung 39: Synthesemöglichkeiten aus 6-(2-Oxo-oxazolidin-3-carbonyl)-2,5,6,7-tetrahydro-azepin-1,4-dicarbonsäure-1-tert-butylester-4-methylester.

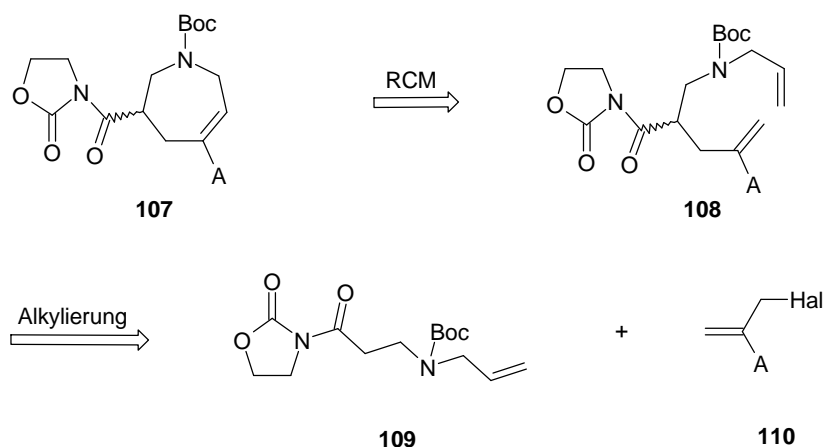


Abbildung 41: Retrosynthese der Grundstruktur.

Als Allyl-Halogen kommt neben dem schon in *Kapitel 3* verwendeten Bromid **16** auch der entsprechende Benzylester in Betracht. Dieser sollte sich analog des Methylesters durch Reaktion von Acrylsäurebenzylester mit Formaldehyd in Form einer Baylis-Hillman-Reaktion darstellen lassen.

Die Darstellung entsprechender Benzylester⁸⁰ ist zwar bekannt und sollte demnach unproblematisch verlaufen, jedoch findet sich zurzeit keine Literatur, in der eine solche azyklische Vorstufe über eine RCM ringgeschlossen wird, so dass diese Synthesesequenz zunächst zurück gestellt wurde.

Die zum β -Aminoester **18** analoge Synthesezwischenstufe **109** sollte sich über die entsprechende Amin-Vorstufe **111** darstellen lassen, die ihrerseits über eine Michael-Addition von Allylamin **112** und dem 3-Acryloyl-oxazolidin-2-on **113** zugänglich sein sollte. Die nach klassischen Methoden durchgeführte *N*-Acylierung von 2-Oxazolidinonen mit Acrylsäurederivaten wird in der Literatur jedoch als problematisch beschrieben, da die Produkte zur Polymerisation neigen.

Alternativ kann man das Acrylsäurechlorid mit dem Brommagnesium-Salz des Oxazolidinons umsetzen⁸¹ oder das *N*-Trimethylsilyl-Derivat in Anwesenheit von Kupfer(II)chlorid und Kupferpulver.⁸² Die Ausbeuten liegen im Bereich von 50-70%.

⁸⁰ Xin, Z. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1887-1890.

⁸¹ Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, Vol. 110, No. 4.

⁸² Thom, C. et al., *P. Synthesis* **1992**, 582.

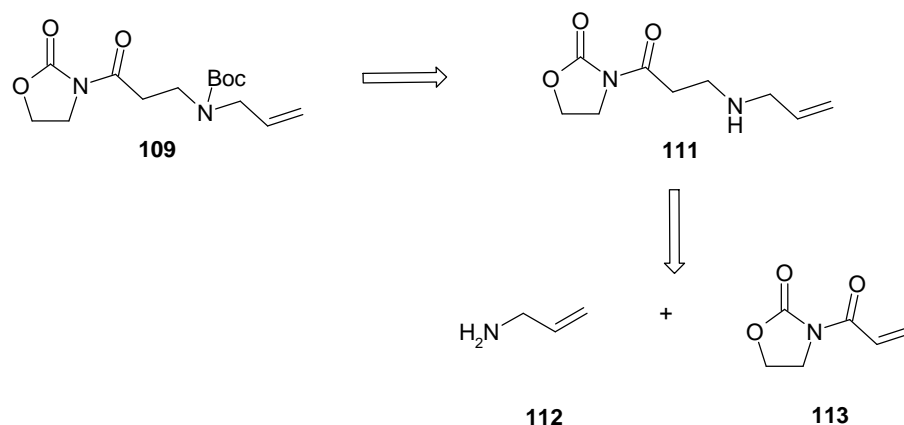


Abbildung 42: Retrosynthese der Synthesezwischenstufe **109**.

4.3. Darstellung der zentralen Synthesezwischenstufe

Die Darstellung des 3-Acryloyl-oxazolidin-2-ons **113** gelang durch die Umsetzung von 2-Oxazolidinon **117** mit dem *in situ* dargestellten Anhydrid **116** in 62% Ausbeute.⁸³

Die sich anschließende Michael-Addition von **113** mit Allylamin unter Standardbedingungen lieferte das gewünschte Produkt leider nur in einer geringen Ausbeute von 19%. Durch Modifikation der Standardbedingungen (Zusatz von Triethylammoniumacetat und der Verwendung von Dichlormethan als Lösemittel) war es möglich, die Reaktion mit einer doppelt so hohen Ausbeute (41%) zum gewünschten sekundären Amin zu führen.

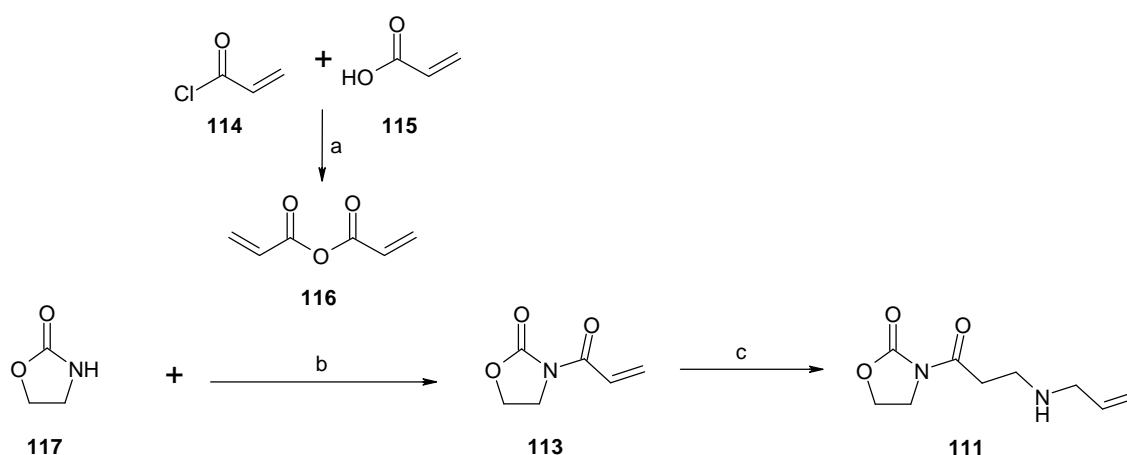


Abbildung 43: Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) TEA, EtOAc, 0°C, 30 min; (b) LiCl, TEA, THF, RT, 4 h, 62%; (c) 1) TEA, HOAc, RT, 30 min; 2) Allylamin, DCM, RT, 2 h, 41%.

⁸³ Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, Vol. 121, No. 33.

Das *in situ* hergestellte Triethylammoniumacetat dient als schwach saurer Katalysator. In der Literatur ist bekannt, dass ohne diesen Zusatz unter Standardbedingungen das entsprechende Amid **119** in hoher Ausbeute gebildet wird (Abbildung 44).⁸⁴

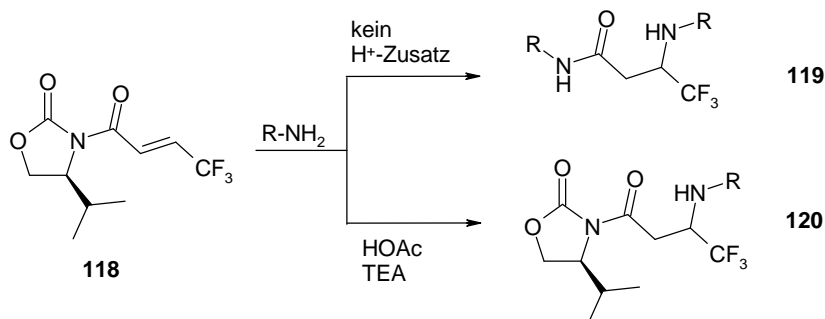


Abbildung 44: Optimierung der Reaktionsbedingungen für die Aza-Michael-Reaktion.

Überraschenderweise erfolglos blieben alle Versuche, trotz Variation der Reaktionsbedingungen, das sekundäre Amin mit einer Boc-Gruppe zu schützen. Das gewünschte Produkt wurde mittels Massenspektrometrie eindeutig identifiziert, jedoch konnte das gewünschte Produkt auch nach säulenchromatographischer Aufreinigung nicht sauber erhalten werden.

Da diese kürzere Synthesesequenz leider nicht zum sauberen Produkt führte, wurde ein anderer Syntheseweg beschritten.^{85,86,87,88}

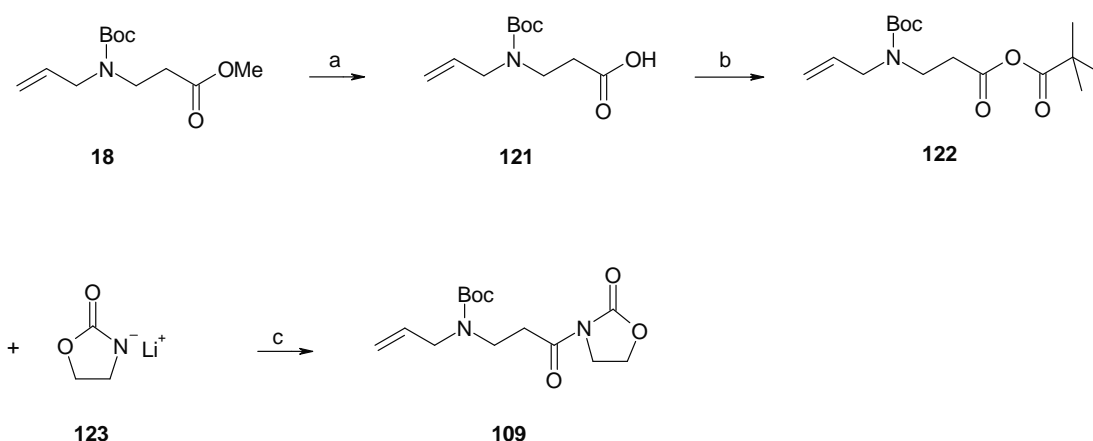


Abbildung 45: Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) 1 M LiOH, MeOH, RT, 1 h, 91%; (b) Pivaloylchlorid, *N*-Methyl-morpholin, 0°C, 1 h; (c) THF, -78°C, 2 h, RT, 14 h, 85%.

⁸⁴ Molteni, M. et al., *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 589-593.

⁸⁵ Yamanaka, T. et al., *Synlett* **2005**, No. 4, 631-634.

⁸⁶ Shi, Z.-D. et al., *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 788-791.

⁸⁷ Evans, D.A. et al., *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1958.

⁸⁸ Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9434.

Als Edukt dient hier wiederum der schon in der ursprünglichen Synthese verwendete β -Aminoester **18**. Verseifung des Methylesters mit LiOH zur Carbonsäure **121** und anschließende *in situ* Umsetzung mit Pivaloylchlorid führt zum gemischten Anhydrid **122**, welches direkt mit dem zuvor generierten Lithium-Salz des Oxazolidinons **123** umgesetzt wird und in 85% Ausbeute zum entsprechenden reinen Oxazolidinon **109** führt (Abb.45).

Die Alkylierung von **109** mit einem entsprechend substituierten Allyl-Halogenid **16** führt zum Dien **124**, welches anschließend über eine RCM-Reaktion zum entsprechend substituierten Azepin **125** zyklisiert werden soll. Da zunächst die Variation des Carbonyl-Abstandes in Position 3 des Azepin-Grundgerüsts im Vordergrund stand, wurde auf (2-Bromomethyl-allyl-oxy)-*tert*-butyl-dimethyl-silan **16** als Synthesebaustein zurückgegriffen, wie in Abbildung 46 veranschaulicht.

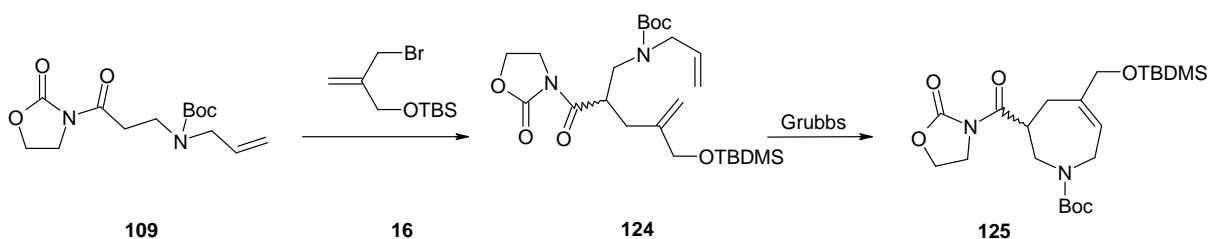


Abbildung 46: Darstellung von **125** via RCM.

Die Enolatalkylierung von Oxazolidinonen verläuft über das Z-Enolat und führt beim Einsatz entsprechend chiraler Oxazolidinone zu den entsprechenden Produkten in hoher Ausbeute und sehr guter Diastereoselektivität. In Analogie zu der bisherigen Synthese wurde zunächst das substituierte Allylbromid **16** als Elektrophil verwendet. In der Literatur sind entsprechende Umsetzungen mit Allylbromiden beschrieben.^{89,90}

Da sich das Bromid-Derivat allerdings unter den gewählten Reaktionsbedingungen im Zuge der Substitutions-Reaktion als zu wenig reaktiv erwies, wurde das entsprechende iodierte allylische Fragment, das literaturbekannt ist,⁹¹ analog der von S. Brass beschriebenen Synthese der bromierten Zwischenstufe **16** dargestellt (Abbildung 47).⁵⁷

⁸⁹ Evans D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1737-1739.

⁹⁰ Koch S.S.C. et al., *J. Org. Chem.* **1993**, Vol. 58, No. 10.

⁹¹ Robertson, J. et al., *Org. Lett.* **2004**, Vol. 6, No. 21, 3857-3859.

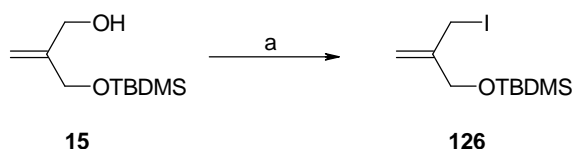


Abbildung 47: Synthese des iodierten allylischen Fragments. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) TPP/I₂, Imidazol, DCM, 0°C, 1 h, 92%.

Tabelle 7 fasst die Ergebnisse der Optimierung der Reaktionsbedingungen der Substitutionsreaktion zusammen. Die Verwendung des bromierten allylischen Fragments **16** und der Base LDA führte zu keiner Umsetzung der Reaktion. Jedoch konnte durch Austausch des Elektrophils und der Base in das Iodid und NaHMDS das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 51% erhalten werden. Wird das Oxazolidinon-Derivat in einem 1,5-fachen Überschuss unter denselben Bedingungen umgesetzt, steigt die Ausbeute auf nahezu 60%.⁹²

<p style="text-align: center;"> <chem>CCOC(=O)N1CCOC1=OCCN(CCC=C)C(=O)N(C)C(C)C</chem> $\xrightarrow{\text{Elektrophil}}$ <chem>CCOC(=O)N1CCOC1=OCCN(CCC=C)C(=O)N(C)C(C)C</chem> 109 124 </p>			
Elektrophil	Base	Stöchiometrie	Ausbeute
<p style="text-align: center;">16</p>	LDA	109: 1,0 Elektrophil: 1,0 Base: 1,0	-
<p style="text-align: center;">126</p>	NaHMDS	109: 1,0 Elektrophil: 1,0 Base: 1,0	51%
<p style="text-align: center;">126</p>	NaHMDS	109: 1,5 Elektrophil: 1,0 Base: 1,0	58%

Tabelle 7: Optimierung der Reaktionsbedingungen der Substitutionsreaktion des allylischen Fragments und des Oxazolidinon-Derivats.

⁹² Crimmins, M.T. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1371-1378.

Nachdem die Synthese der entsprechenden Dien-Vorstufe erfolgreich verlaufen war, sollte diese nun, wie aus der Retrosynthese (*Abbildung 41*) zu entnehmen ist, mittels Ringschlussmetathese, in das entsprechende Azepin **125** überführt werden.

In *Tabelle 8* ist die Validierung der Katalysatorbeladung für die Ringschlussmetathese zusammengefasst. Der Grubbs-Katalysator der ersten Generation ermöglichte es nicht, die azyklische Vorstufe in die ringgeschlossene Stufe **125** zu überführen. Durch die Verwendung des Grubbs II-Katalysators in einer Beladung von 5 mol%, welche einer Katalysator-Konzentration von 556 μM entspricht, und einer Edukt-Konzentration von 11,1 mM, konnte das Produkt **125** in einer Ausbeute von 88% gewonnen werden. Reduziert man die Katalysatormenge auf 2 mol%, bei gleich bleibender Katalysator-Konzentration, und erhöht die Edukt-Konzentration auf 25 mM, wird die Ausbeute auf bemerkenswerte 94% erhöht.⁸⁵

Ansatz	Katalysator-Beladung (mol%)	Konzentration von 124 (mM)	Katalysator-Konzentration (μM)	Ausbeute (%)
1	Grubbs I 5	11,1	510	-
2	Grubbs II 5	11,1	556	88
3	Grubbs II 2	25	500	94

Tabelle 8: Anpassung der Katalysatorbeladung für die RCM.

Im letzten Syntheseschritt kann man nun entweder das Oxazolidinon zur Carbonsäure **90** spalten oder den bereits bekannten Alkohol **21** mittels Reduktion darstellen.

Diese Reduktion gelingt in nahezu quantitativer Ausbeute mit Natriumborhydrid in einem Tetrahydrofuran/Wasser-Gemisch.⁹³

⁹³ Schmauder, A. et al., *Tetrahedron* **2008**, 64, 6263-6269.

Die Spaltung des Oxazolidinons gelingt ebenfalls unter Standardbedingungen mit LiOH/H₂O₂ in guter Ausbeute.⁸⁵ Zu beachten ist aber, dass das Säure-Derivat **90** sehr instabil ist, da die TBDMS-Schutzgruppe durch die Carbonsäure-Funktion innerhalb des Moleküls abgespalten werden kann.

Die Carbonsäure dient als Edukt für die Synthese der Inhibitoren mit verkürztem Carbonyl-Abstand in Position 3 des Azepin-Ringsystems.

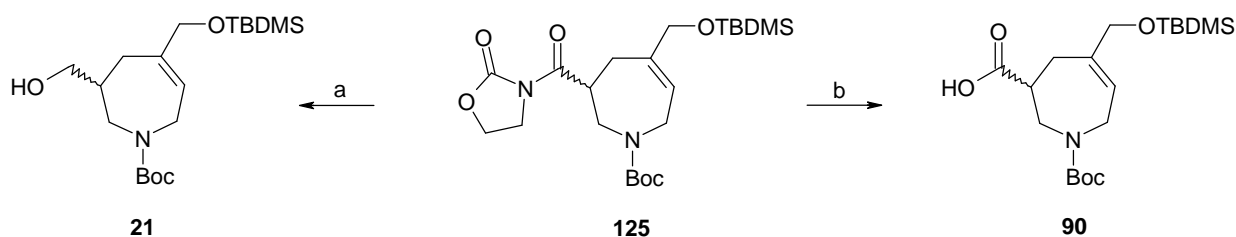
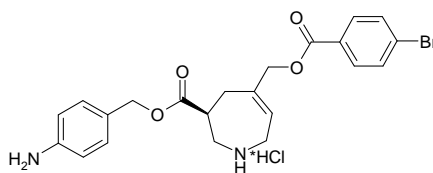
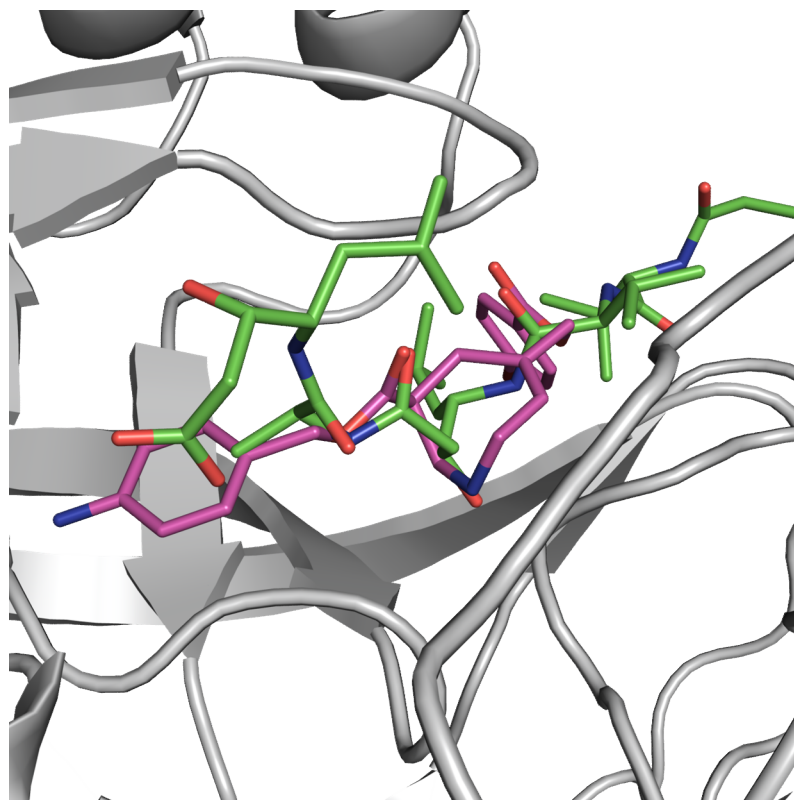


Abbildung 48: Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) NaBH₄, THF/H₂O, 0°C, RT, 3 h, 99%; (b) LiOH/H₂O₂, THF/H₂O, 0°C, 2 h, 98%.

4.4. Darstellung der Inhibitoren mit verkürztem Carbonyl-Abstand

Zur Dekoration des Azepin-Grundgerüsts wurde in Position 3 der entsprechende *p*-Nitro-Benzylester bzw. *p*-Amino-Benzylester ausgewählt und in Position 5 der *p*-Brom-Benzylester. Diese Reste scheinen auf Grund der Dockinglösung als auch angesichts eines Vergleichs mit den Inhibitoren aus *Kapitel 3* am besten geeignet. Dieses Substitutionsmuster ist dem Inhibitor **76**, der der bisher aktivste Inhibitor ist, nachempfunden. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe erhält man den Inhibitor **127**.

Abbildung 49 gibt eine Überlagerung von **127** mit Pepstatin in der Kristallstruktur 1PSO wieder. Die Carbonyl-Gruppen kommen hier zu einer optimalen Übereinanderlagerung bei gleichzeitiger Adressierung des Flap-Bereichs. Zwar wird bei Verbindung **127** das *S*-Enantiomer im Score bevorzugt, während in *Kapitel 3* das *R*-Enantiomer das Bevorzugte war, jedoch stellt dies aus synthetischer Sicht kein Problem dar, da die Synthese racemisch geführt wird. Die stereoselektive Syntheseführung würde, wie bereits erwähnt, erst in Betracht gezogen, wenn eine Röntgenstruktur des Enzym-Inhibitor-Komplexes vorliegt.



127

Abbildung 49: Kristallstruktur 1PSO (schematischer Verlauf der Polypeptidkette ist in grau wiedergegeben) im Komplex mit Pepstatin (Sticks in grün, farbcodiert nach Atom-Typen) und Überlagerung der Docking-Lösung des *S*-Enantiomers von **127** (Sticks in violett, farbcodiert nach Atom-Typen). Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

Durch Kondensation der Carbonsäure-Gruppe mit *p*-Nitrobenzylalkohol unter Standardbedingungen erhält man den Monoester **128**. Die Abspaltung der TBDMS-Gruppe unter schwach sauren Bedingungen lieferte das entsprechende Hydroxymethyl-Derivat **129**, was wiederum anschließend mit *p*-Brom-Benzoesäure zum entsprechenden Bis-Ester-Derivat **130** gekuppelt wurde.

Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit HCl/Diethylether liefert den Inhibitor **131** in Form seines Hydrochlorides in guter Ausbeute.

Der Inhibitor **131** mit in Position 3 verkürztem Carbonyl-Abstand wurde analog dem nachfolgenden Schema dargestellt.

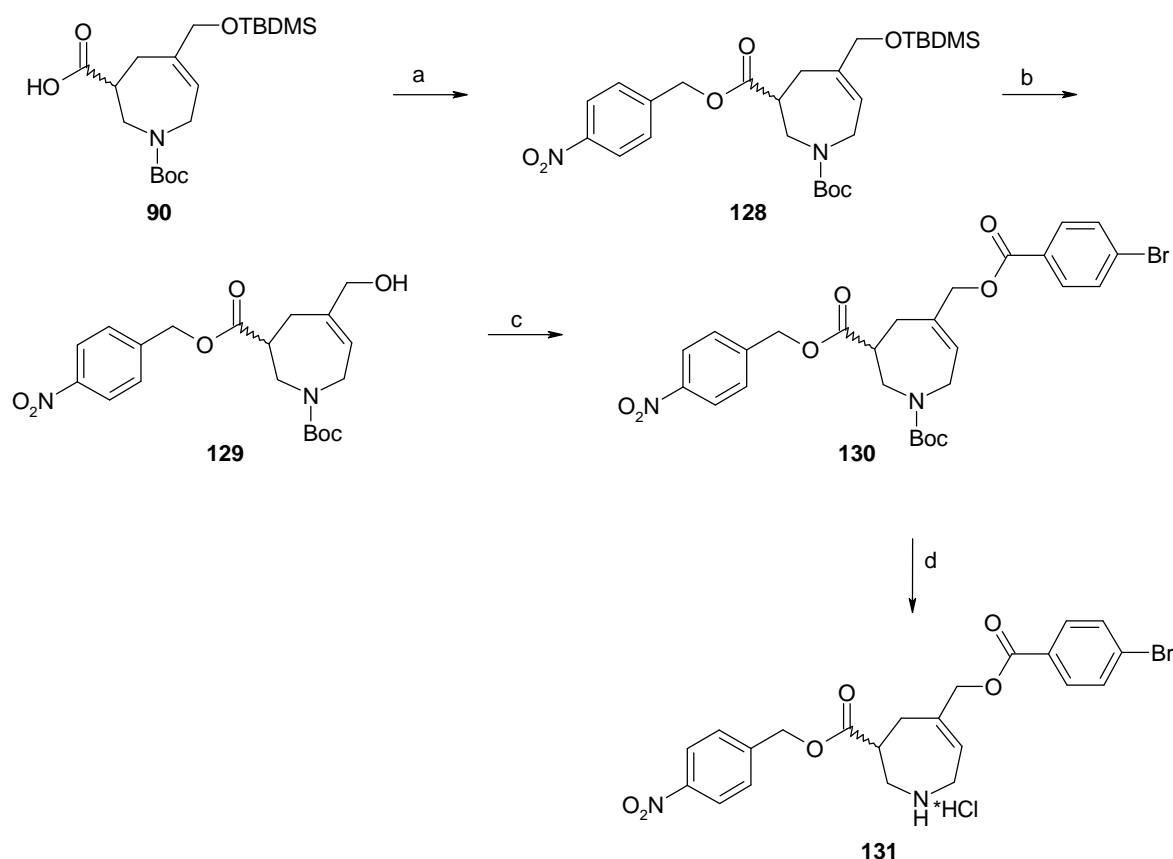


Abbildung 50: Syntheseweg des Inhibitors **131**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) *p*-Nitrobenzylalkohol, THF/DCM 1:1, DIC, DMAP, 12 h, 44%; (b) 1% HCl_(aq) in THF, RT, 30 min, 80%; (c) *p*-Brom-Benzoesäure, THF/DCM 1:1, DIC, DMAP, 13 h, 66%; (d) 2 M in Et₂O, RT, 23 h, 94%.

Die Umsetzung der Carbonsäure **90** mit *p*-Nitrobenzylalkohol führt zum entsprechenden Ester, der als pNZ-Schutzgruppe (*p*-Nitrobenzyloxycarbonyl) der Carbonsäure aufgefasst werden kann. Die pNZ-Schutzgruppe wird normalerweise unter alkalischen Bedingungen mit z.B. Na₂S gespalten. Die Spaltung mit SnCl₂ (DMF, Phenol, AcOH) oder auch reduktive Spaltung mit Na-dithionit ist bekannt,⁹⁴ so dass die bisher verwandte Methode zur Reduktion der Nitrogruppe nicht sinnvoll erscheint (Zinn-II-Chlorid in Ethylacetat bei erhöhter Temperatur).

Durch katalytische Hydrierung wird zwar zunächst die Nitrogruppe zum Amin reduziert, dieses zerfällt jedoch spontan über einen 1,6-Elektronenshift zur entsprechenden Carbonsäure und dem 4-Methylen-cyclohexa-2,5-dienylidenamin, wie in *Abbildung 51* dargestellt.^{95,96}

⁹⁴ Greene, T.W., Wuts, P.G.M., *Protect. Groups in Org. Synth.* **1999**, 3, 424-425.

⁹⁵ Isidro-Llobet, A., Guasch-Camell, J. et al., *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3031-3039.

⁹⁶ Guibe-Jampel, E., Waskelman, M., *Synth. Commun.* **1982**, 12(3), 219-223.

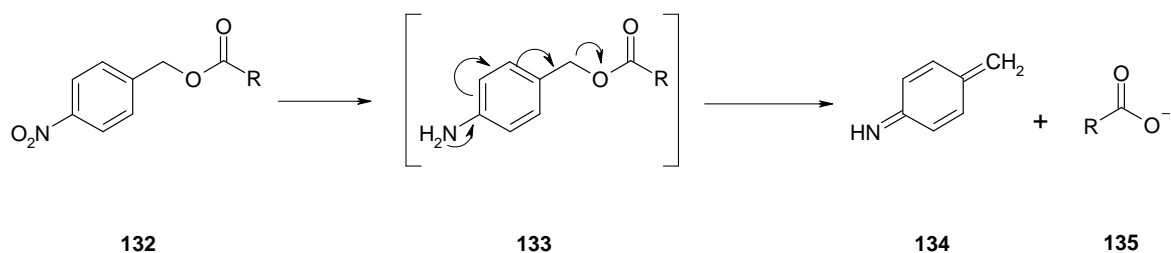


Abbildung 51: Mechanismus der Zersetzung eines Amins über einen 1,6-Elektronenshift.

4.5. Biologische Daten und Bewertungen

kurzer Akzeptor-Abstand	Plm II (K_i)	langer Akzeptor-Abstand	Plm II (K_i)
<p style="text-align: right;">131</p>	54 μM	<p style="text-align: right;">74</p>	49 μM

Tabelle 9: Experimentell bestimmter K_i -Wert von **131** im Vergleich mit **74**.

Der Inhibitor **131** wurde von Herrn Torsten Luksch gegen Plm II getestet. Diese Verbindung zeigt ebenfalls eine Affinität im mittleren mikromolaren Bereich, d.h. die Affinität hat sich nicht signifikant verändert im Vergleich zur entsprechenden Verbindung mit langem Akzeptor-Abstand (**74**) aus Kapitel 3. Folglich scheint die alleinige Verkürzung des Carbonyl-Abstandes keinen entscheidenden Einfluss auf die Affinität der Verbindung zu haben. Die Verkürzung des Akzeptor-Abstands sollte zu einer Verbesserung der Wechselwirkung des Inhibitors in der Flap-Region führen. Da auch diese Inhibitoren nur zwei Spezifitätstaschen adressieren, sollen nun durch die Einführung weiterer Substituenten zusätzliche Taschen adressiert werden, in der Hoffnung, dass dies zu einer Affinitätssteigerung der Inhibitoren gegenüber Plm II bzw. Plm IV führt.

5. Synthese dreiarmer Plasmepsin-Inhibitoren basierend auf 3,5-disubstituierten-Tetrahydro-1*H*-azepin-Derivaten

Da sich durch die Veränderung des Carbonyl-Abstandes die Affinität zum Enzym nicht signifikant verändert hatte, sollte nun eine Syntheseroute ausgearbeitet werden, die es ermöglicht, weitere Substituenten an unser Azepin-Grundgerüst einzuführen, um weitere Spezifitätstaschen von Plasmepsin adressieren zu können. Die bisher in dieser Arbeit dargestellten Verbindungen waren lediglich in der Lage zwei der vier Spezifitätstaschen zu besetzen (*Abbildung 52*).

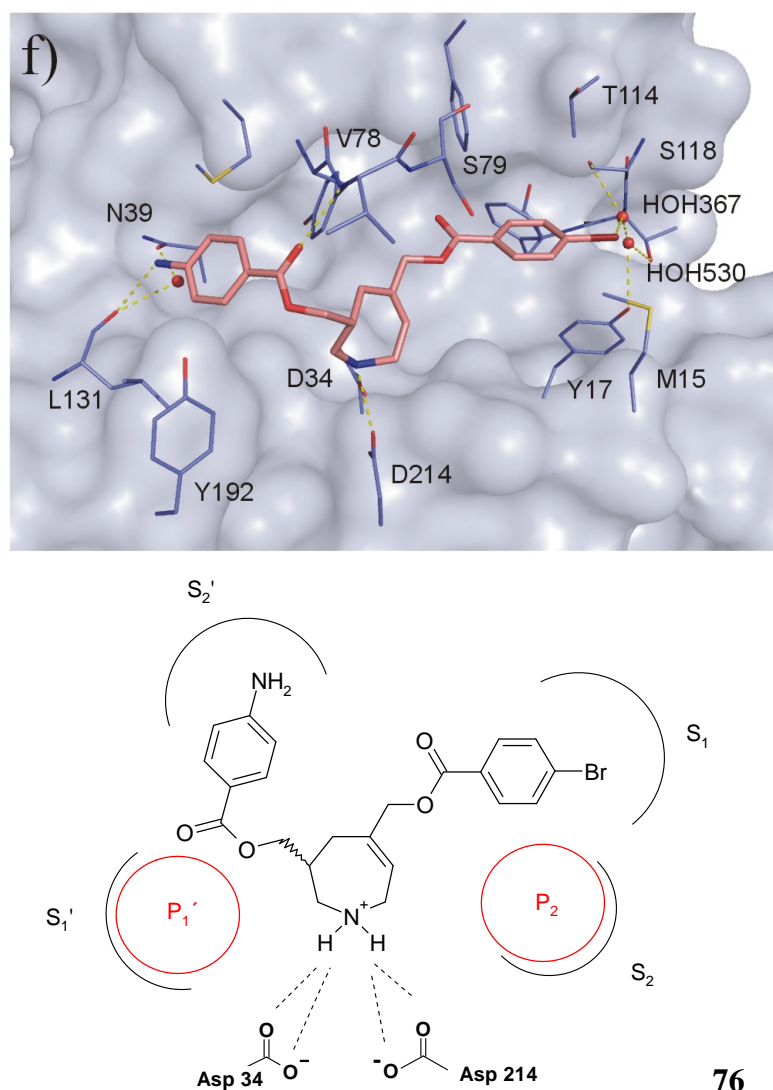


Abbildung 52: Besetzung der Spezifitätstaschen durch **76** (Sticks lachsfarben, farbcodiert nach Atom-Typen) in der Kristallstruktur 1LF2 (blau). Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

Abbildung 52 gibt schematisch die Besetzung der Spezifitätstaschen in Plasmepsin II wieder. Es ist zu erkennen, dass der *p*-Brom-Phenyl-Substituent in Position 5 des Azepin-Grundgerüsts überwiegend die hydrophobe S_1 -Tasche und der *p*-Amino-Phenyl-Substituent die S_2' -Tasche adressiert. Somit liegen die S_1' -Tasche und die S_2 -Tasche noch unbesetzt vor.

Da man aus den in Kapitel 4 vorgestellten Affinitätsdaten keine endgültige Aussage darüber treffen kann, ob ein längerer oder ein kürzerer Akzeptor-Abstand zu einer optimalen Flap-Interaktion führt, wurde für den Aufbau der neuen Synthese-Route die bereits in Kapitel 4 hergestellte Synthesezwischenstufe **125** ausgewählt (Abbildung 53). Sie ermöglicht sowohl die Darstellung von Derivaten mit verkürztem Carbonyl-Abstand als auch die mit längerem Akzeptor-Abstand.

Somit war das Ziel, über unser in Kapitel 4 entwickeltes Oxazolidinon-Derivat einen dritten Substituenten einzuführen.

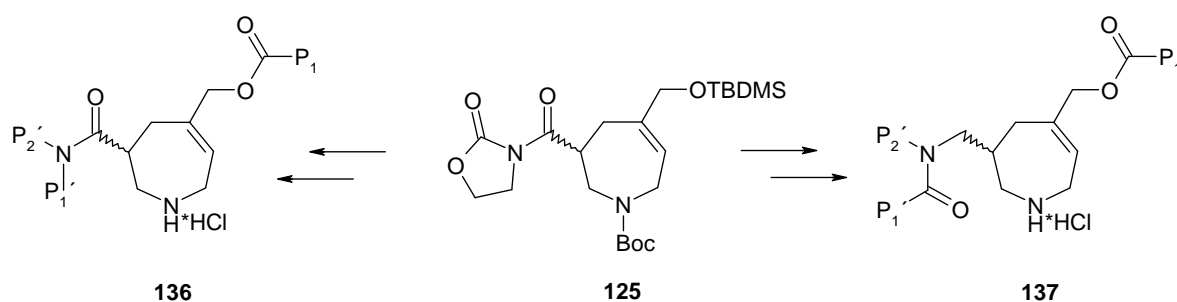


Abbildung 53: Oxazolidinon-Derivat als zentrale Synthesezwischenstufe.

Die Einführung des 3. Substituenten erfolgt aus synthetischer Sicht am einfachsten über eine Amid-Funktionalität. Die Auswahl geeigneter Substituenten erfolgte wieder über Docking. Hierbei zeigte sich, dass bei diesen dreiarmligen Inhibitoren jeweils das *S*-Enantiomer die bessere Wechselwirkungsgeometrie mit dem Enzym erreicht.

Generiert man mittels FlexX Dockinglösungen mit dreiarmligen Azepinen, die einen kurzen Akzeptor-Abstand besitzen in der Kristallstruktur von Plasmepsin II (1LF2), so scheint die S_1' -Tasche vom dritten Substituenten gut besetzt zu sein (Abb. 54).

Aus der Docking-Lösung ist zu erkennen, dass der *p*-Brom-Phenyl-Substituent die S_1 -Tasche adressiert, die S_2' - und die S_1' -Tasche werden von den jeweiligen *p*-Amino-Phenyl-Resten gut besetzt. Der protonierte Stickstoff des Azepins nimmt die zentrale Position zwischen den beiden katalytischen Aspartaten ein.

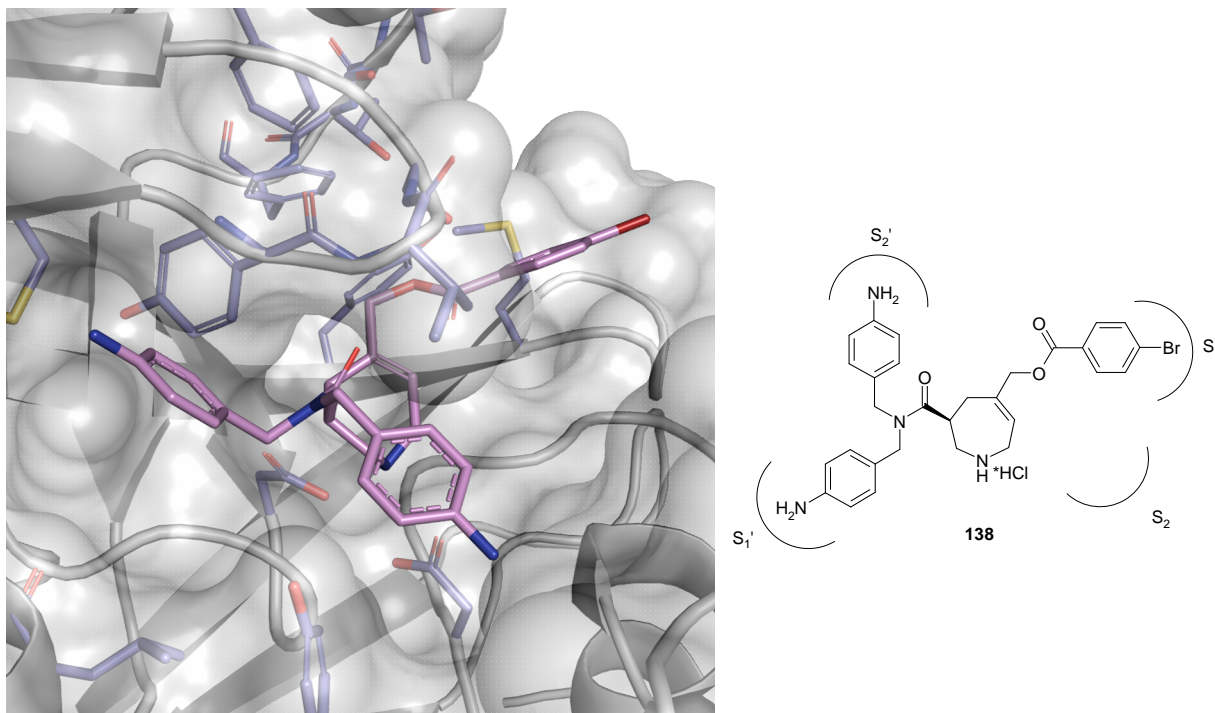


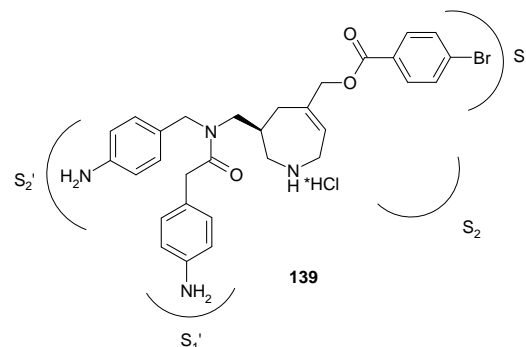
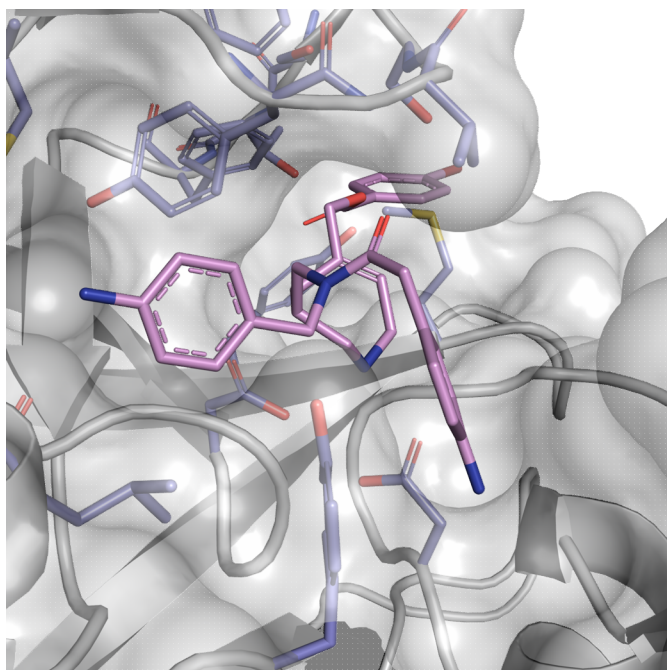
Abbildung 54: Docking-Lösung von **138** als S-Enantiomer (Sticks violett, farbcodiert nach Atom-Typen) in der Kristallstruktur von 1LF2 (grau). Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

In einem weiteren Designzyklus sollte ein entsprechender dreiarmer Inhibitor mit längerem Carbonyl-Abstand identifiziert werden. Das Substitutionsmuster für die S₁- und S₂'-Tasche sollte weiterhin dem bisher besten Inhibitor **76** nachempfunden werden, d. h. als P₂'-Substituent wurde ein *p*-Amino-Phenyl-Rest und als P₁-Substituent ein *p*-Brom-Phenyl-Rest beibehalten. Der P₁'-Substituent sollte wiederum über eine Amid-Bindung eingeführt werden, was im Docking berücksichtigt wurde.

Als Ergebnis im Docking ergab sich, dass die S₁'-Tasche von einem *p*-Amino-Phenyl-methylen-Rest optimal besetzt zu sein scheint. Aus *Abbildung 55a* ist außerdem zu erkennen, dass die Carbonyl-Funktionalität des Amids Wasserstoff-Brücken zur Flap-Region, d. h. zum Backbone-NH von Val 78, bildet. Zudem wird in der S₂'-Tasche vom *p*-Amino-Phenyl-Substituent eine Wasserstoff-Brücke zu Leu 131 ausgebildet.

Generiert man im Docking zur besseren Veranschaulichung dieselbe Verbindung ohne die Methylengruppe des P₁'-Substituenten, so ist deutlich zu erkennen, dass der P₁'-Substituent die S₁'-Tasche in diesem Fall nicht richtig besetzen kann. Die Methylen-Gruppe ist somit notwendig, um die S₁'-Tasche optimal adressieren zu können (*Abbildung 55b*).

a)



b)

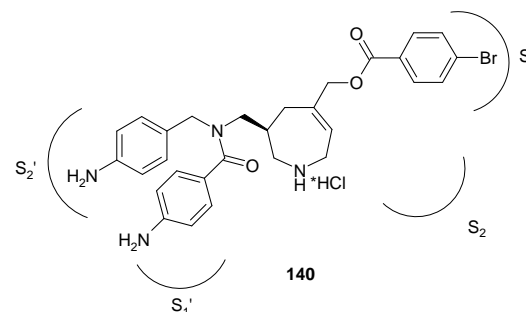
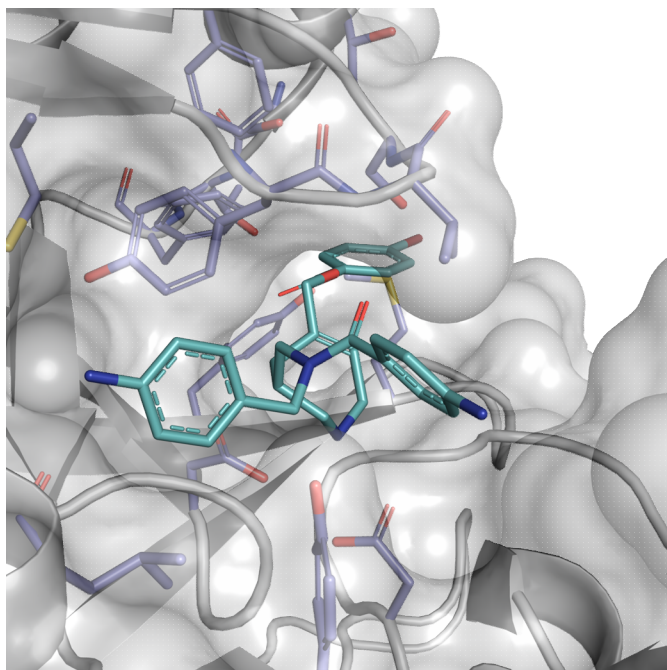


Abbildung 55: a) Docking-Lösung des *S*-Enantiomers des dreiarmigen Azepins **139** (Sticks in violett, farbcodiert nach Atom-Typen) in der Kristallstruktur 1LF2 (grau). Wasserstoff-Brücken-Bindungen zum Flap und zur katalytischen Diade sind ausgebildet. Die drei Substituenten adressieren die S_1 -, die S_2' - und die S_1' -Taschen. b) Docking-Lösung des *S*-Enantiomers des dreiarmigen Azepins **140** ohne Methylene-Gruppe des P_1' -Substituenten (Sticks in türkis, farbcodiert nach Atom-Typen) in der Kristallstruktur 1LF2 (grau). Wasserstoff-Brücken-Bindungen zum Flap und zur katalytischen Diade sind ausgebildet. Die P_1 - und P_2' -Substituenten adressieren die S_1 - und die S_2' -Tasche. Die S_1' -Tasche ist nicht optimal vom P_1' -Substituenten besetzt. Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

5.1. Synthese dreiarmer Inhibitoren mit verkürztem Carbonyl-Abstand

Die Inhibitoren mit verkürztem Akzeptor-Abstand sollten analog der in *Abbildung 56* geplanten Syntheseroute dargestellt werden. Aus der zentralen Synthesezwischenstufe **125**, ist der in *Kapitel 4* beschriebene 5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydroazepin-1,3-dicarbonsäure-1-*tert*-butylester **90** zugänglich. Durch Kupplung eines entsprechend substituierten Amins **141** sollen die die S_2' -und S_1' -Tasche adressierenden Substituenten eingeführt werden (**142**). Nach selektiver Abspaltung der TBDMS-Gruppe (**143**) soll in Position 5 des Azepin-Grundgerüsts wie bisher der P_1 -Substituent eingeführt werden (**144**). Durch Reduktion der Nitro-Verbindung mit Zinn(II)-chlorid und anschließender Boc-Entschützung kann die entsprechende Amin-Verbindung **136** gewonnen werden.

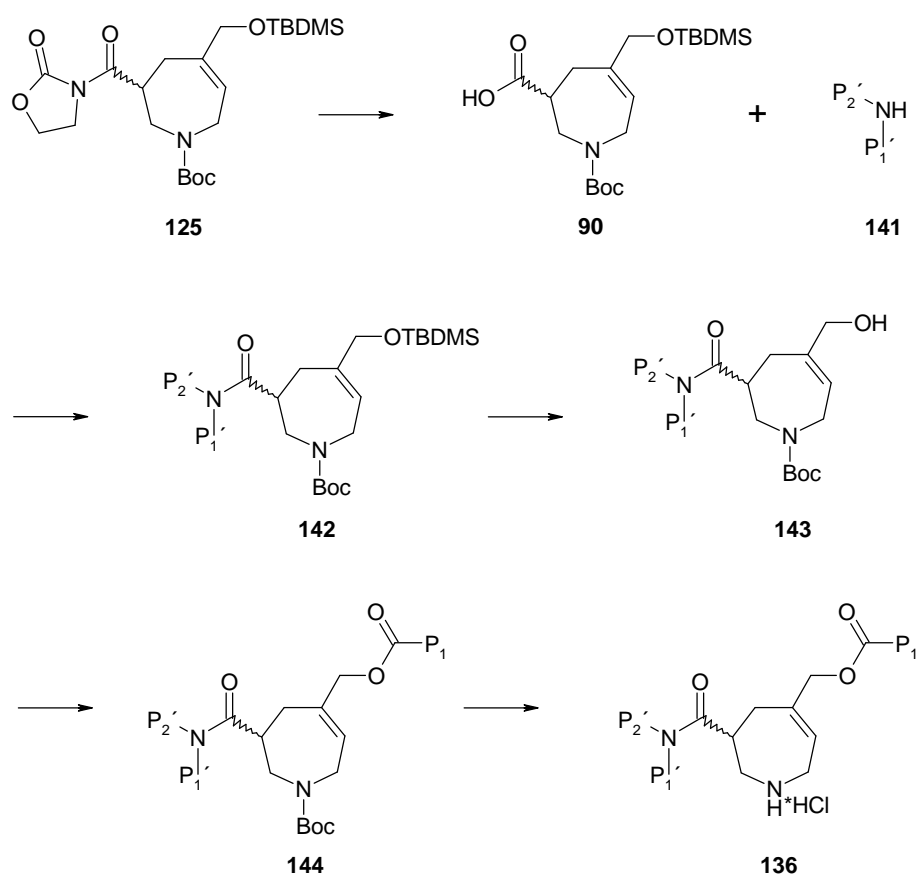


Abbildung 56: Geplante Syntheseroute dreiarmer Azepin-Inhibitoren mit verkürztem Carbonyl-Abstand.

Zunächst wurde das sekundäre Amin **141**, das als Anker-Gruppe für die S_2' - und S_1 -Taschen dienen soll, in einer 1-Stufen-Synthese nach Wang et al. hergestellt. Wie in *Abbildung 57* dargestellt, führt die Reduktive Aminierung von *p*-Nitro-Benzaldehyd **145** mit *p*-Nitro-Benzylamin **146** zum gewünschten sekundären Amin **147**.⁹⁷

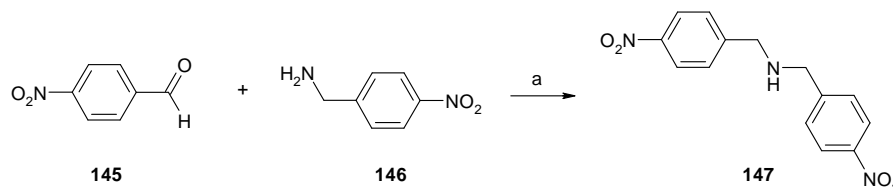


Abbildung 57: Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) NaBH_3CN , HOAc, ACN, 13 h, RT, 41%.

Abbildung 58 gibt die gesamte Synthese-Folge zum Inhibitor **151** mit verkürztem Carbonyl-Abstand wieder:

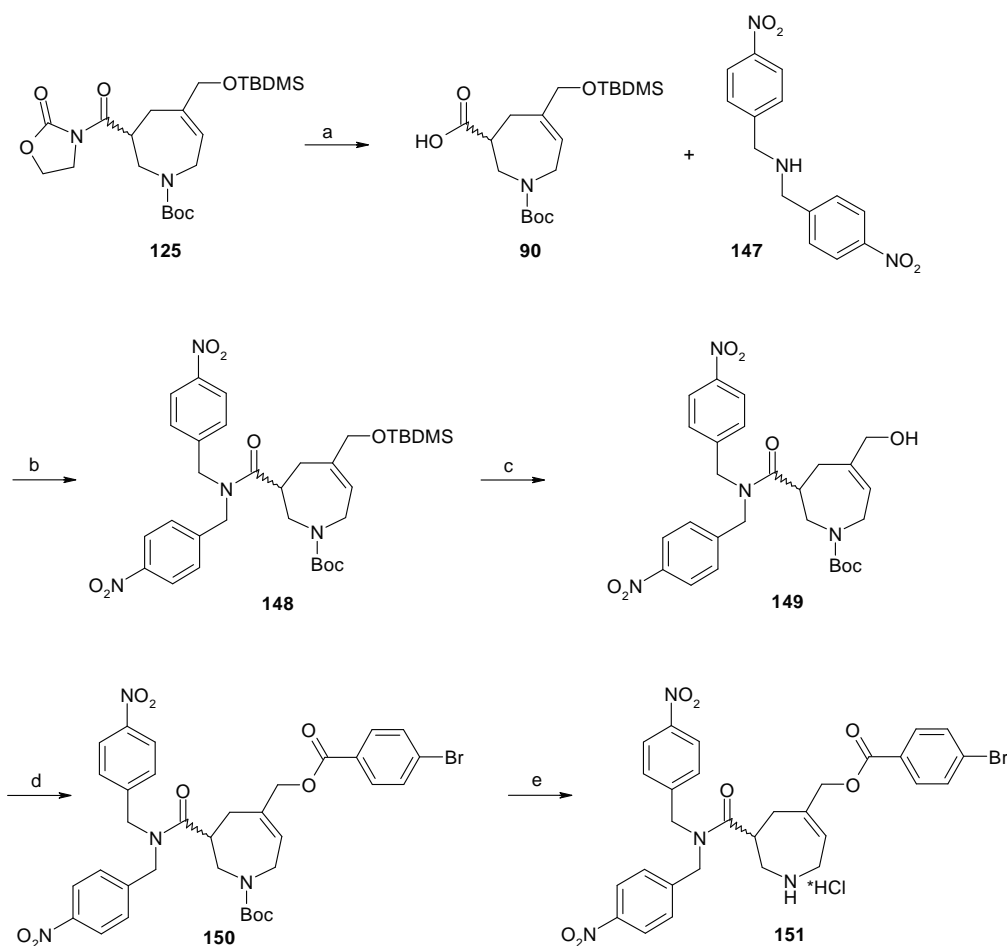


Abbildung 58: Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) $\text{LiOH}/\text{H}_2\text{O}_2$, THF/ H_2O , 0°C , 2 h, 98%; (b) EDCI-HCl, 1-HOBT, DMF, 50°C , 4 h, 31%; (c) 1% $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ in THF, RT, 30 min, 70%; (d) *p*-Brom-benzoesäure, EDCI-HCl, 1-HOBT, DMF, 50°C , 4 h, 58%; (e) 2 M HCl in Et_2O , RT, 18 h, 93%.

⁹⁷ Wang et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1119-1122.

Zunächst wurde die Oxazolidinon-Gruppe von **125**, wie schon im vorangegangenen Kapitel beschrieben, abgespalten. Die so erhaltene Carbonsäure **90** wurde mit dem zuvor dargestellten sekundären Amin **147** zum Carbonsäure-Amid **148** gekuppelt. Die Kupplungsreaktion wurde durch Aktivierung der Carbonsäurekomponente mit EDCI-HCl unter Katalyse von 1-HOBT (wasserfrei) in Dimethylformamid initiiert. EDCI-HCl wurde verwendet, da der sich bei dieser Reaktion bildende Harnstoff wasserlöslich ist.

Über diese Reaktionssequenz ist es möglich, in einem Reaktionsschritt gleich zwei Substituenten an das Grundgerüst einzuführen.

Im nächsten Schritt lieferte die selektive Abspaltung der TBDMS-Gruppe von **148** unter schwach sauren Bedingungen das entsprechende Hydroxymethyl-Derivat **149**, welches im nächsten Schritt mit *p*-Brombenzoesäure gekuppelt wurde, so dass man das entsprechende Derivat **150** erhielt. Das Substitutionsmuster des P₁-Substituenten wurde weiterhin dem aktivsten Inhibitor **76** nachempfunden. Im letzten Syntheseschritt wurde die Boc-Schutzgruppe unter wasserfreien Bedingungen mit HCl in Diethylether abgespalten, welches den Inhibitor **151** in Form seines Hydrochlorid-Salzes in einer sehr guten Ausbeute lieferte.

Da zu diesem Zeitpunkt eine Komplexstruktur eines Azepin-Derivats in dem Modellenzym Endothiapepsin vorlag, wurde auf die Darstellung des entsprechenden Amino-Derivats verzichtet.

5.2. Synthese dreiarmer Azepin-Inhibitoren mit längerem Akzeptor-Abstand

Parallel zu den Inhibitoren aus Kapitel 5.1. wurden Azepin-Inhibitoren mit längerem Carbonyl-Abstand dargestellt. In Analogie zu den in Kapitel 3 beschriebenen Inhibitoren wurden als P₁'-Substituenten der Inhibitoren sowohl in *para*-Position substituierte als auch unsubstituierte Aromaten ausgewählt. Durch das unterschiedliche Substitutionsmuster soll der Effekt, den ein *p*-substituierter P₁'-Substituent auf die Affinität hat, auch in dieser Serie systematisch untersucht werden.

Abbildung 59 stellt den gesamten Syntheseweg dar:

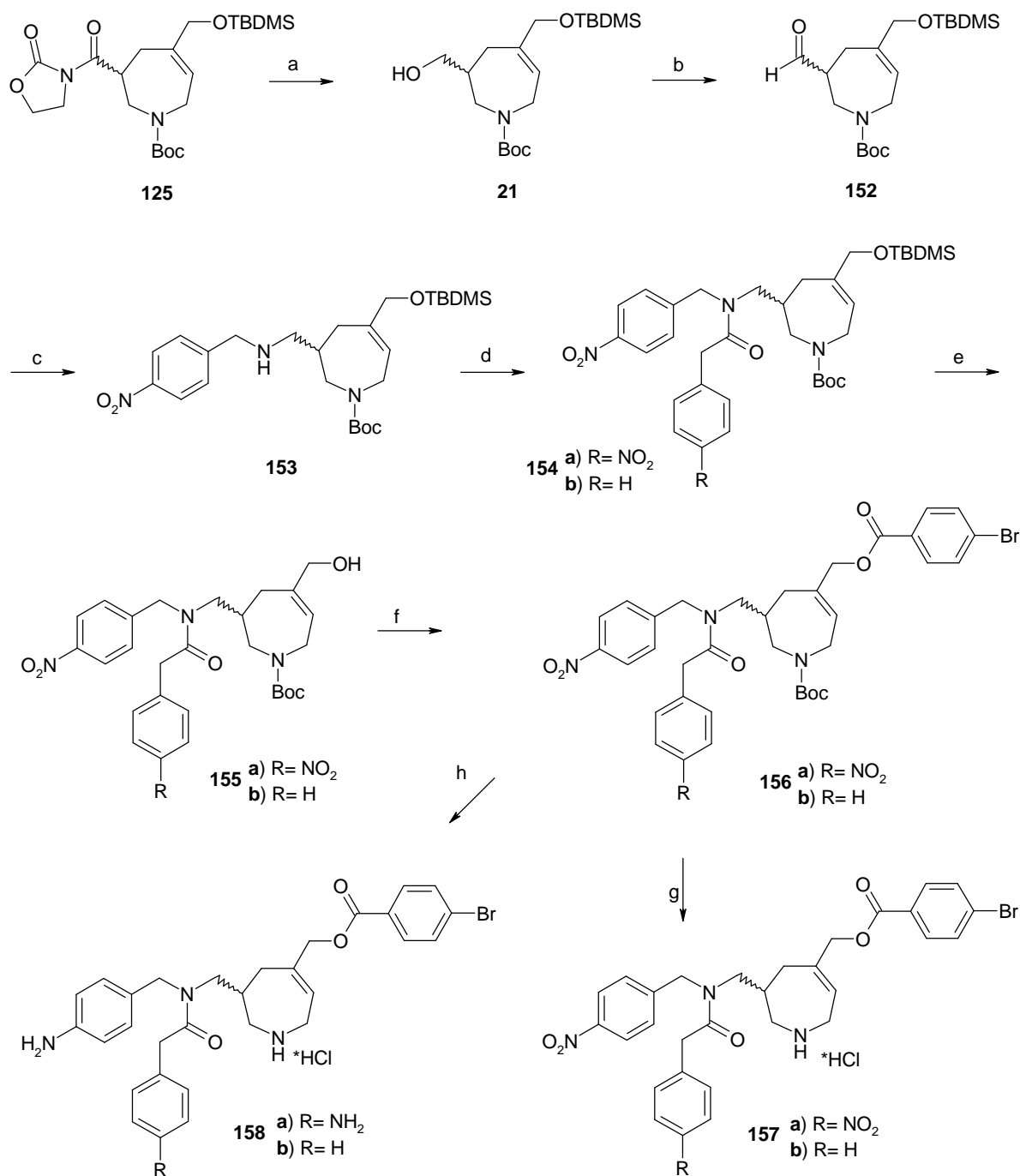


Abbildung 59: Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) NaBH₄, THF/H₂O, 0°C, RT, 3 h, 99%; (b) Oxalylchlorid, DMSO, Hünig-Base, -80°C, 1.5 h, 96%; (c) *p*-Nitro-benzylamin, Na-triacetoxylborhydrid, Triethylorthoformiat, MeOH, RT, 4 h, 66%; (d) EDCI-HCl, 1-HOBT, DMF, 50°C, 3 h; für **154a**: *p*-Nitro-phenyllessigsäure 71%; für **154b**: *p*-Phenyllessigsäure 92% (e) 1% HCl_(aq) in THF, RT, 30 min; für **155a**: ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt; für **155b**: 86%; (f) *p*-Brombenzoesäure, EDCI-HCl, 1-HOBT, DMF, 50°C, 4 h; für **156a**: 53%; für **156b**: 53%; (g) 2 M HCl in Et₂O, RT, 22 h, für **157a**: 94%; für **157b**: 96%; (h) 1) SnCl₂·2H₂O in EtOAc, 80°C, 3 h, 2) 2 M HCl in Et₂O, RT, 24 h; für **158a**: 61%; für **158b**: 47%.

Durch Reduktion mit NaBH_4 wird das Oxazolidinon-Derivat **125** in den entsprechenden Alkohol **21** überführt. Swern-Oxidation liefert den entsprechenden Aldehyd **152**, nach reduktiver Aminierung mit *p*-Nitrobenzylamin erhält man das entsprechende sekundäre Amin **153**. Die Kupplung von *p*-Nitrophenylelessigsäure bzw. Phenylelessigsäure an das sekundäre Amin **153** über die Aktivierung der Säure mit EDCI-HCl führt zu Verbindung **154a** und **154b**. Somit wurden durch die reduktive Aminierung der P_2' -Substituent und durch die Kupplung an das sekundäre Amin der P_1' -Substituent eingeführt. Nach selektiver Abspaltung der TBDMS-Gruppe unter schwach sauren Bedingungen wurden die Hydroxymethyl-Derivate **155a** und **155b** erhalten, welche im nächsten Schritt mit *p*-Brombenzoesäure zu den entsprechenden Estern **156a** und **156b** umgesetzt wurden. Die Boc-Schutzgruppe wurde unter wasserfreien Bedingungen mit HCl in Diethylether abgespalten und so die Inhibitoren **157a** und **157b** in Form ihrer Hydrochloride in sehr guten Ausbeuten gewonnen.

Durch Reduktion mit Zinn(II)-chlorid und anschließender Freisetzung der Hydrochloride unter sauren Bedingungen konnten die entsprechenden Aminverbindungen **158a** und **158b** aus ihren Vorstufen gewonnen werden (*Abbildung 59*).

5.3. Biologische Bewertung

Die neu synthetisierten Verbindungen **151**, **157a-b** und **158a-b** wurden von Frau Helene Krüger im Arbeitskreis von Herrn Prof. Klebe auf ihre inhibitorische Aktivität gegen Plasmeprin II getestet.

Abbildung 60 zeigt die Inhibitions-Werte der dreiarmligen Verbindung **151** mit verkürztem Carbonyl-Abstand und des entsprechenden disubstituierten Inhibitors **131** im direkten Vergleich.

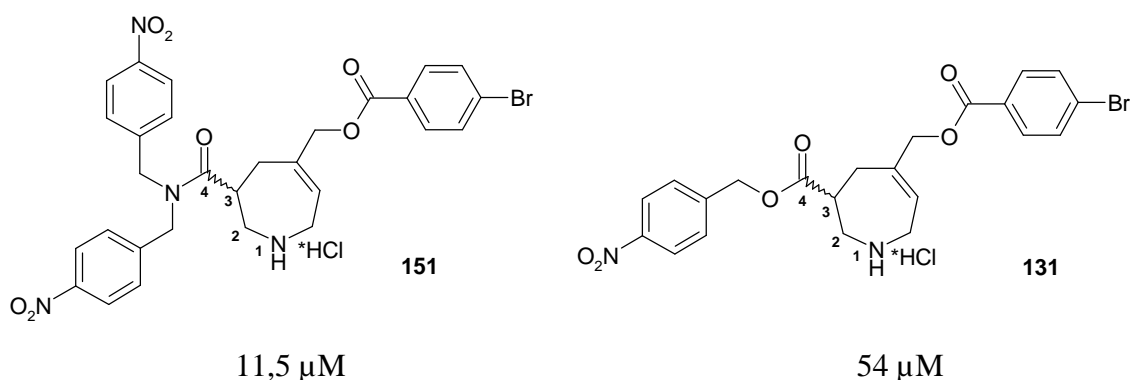


Abbildung 61: Experimentell bestimmte K_i -Werte: **151** im Vergleich zu **131**.

Es ist zu erkennen, dass die neue, dreiarmlige Verbindung **151** einen K_i -Wert von 11,5 μM gegen Plm II aufweist, der entsprechende zweiarmlige Inhibitor **131** einen K_i -Wert von 54 μM . Somit konnte unsere Modelling-Studie bestätigt werden, dass mittels Einführung eines weiteren Substituenten die Affinität zum Enzym erhöht wird, in unserem Fall um ein 5-Faches.

Im zweiten Designzyklus wurden 4 weitere Inhibitoren mit längerem Akzeptor-Abstand synthetisiert. Die Kettenlänge des P_1' -Substituenten wurde um eine Methylen-Gruppe verlängert. Das Substitutionsmuster des P_2' - und des P_1' -Restes in p -Position wurde variiert. Alle Inhibitions-Werte befinden sich im unteren mikromolaren Bereich, unterscheiden sich jedoch nicht signifikant voneinander (Tabelle 10).

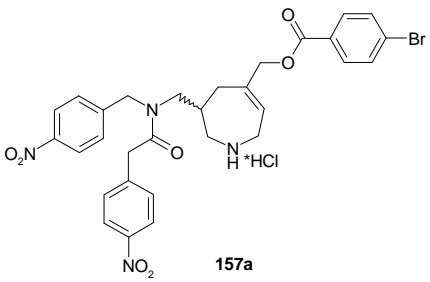
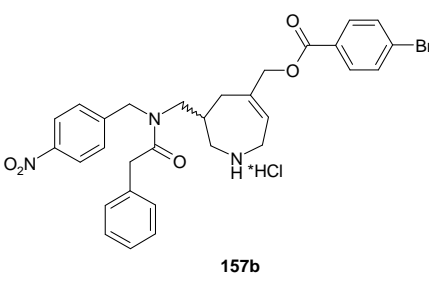
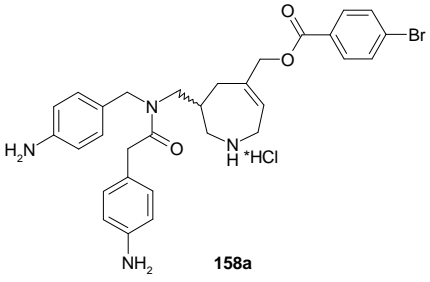
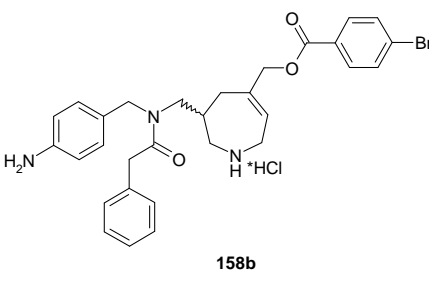
P_1' p -substituiert	Plm II (K_i)	P_1' p -unsubstituiert	Plm II (K_i)
 157a	11,5 μM	 157b	7,5 μM
 158a	5,0 μM	 158b	8,3 μM

Tabelle 10: Experimentell bestimmte Affinitätsdaten dreiarmliger Inhibitoren mit längerem Carbonyl-Abstand gegen Plm II.

In *Abbildung 61* ist Verbindung **158a** im direkten Vergleich mit dem entsprechenden disubstituierten Inhibitor **76** wiedergegeben.

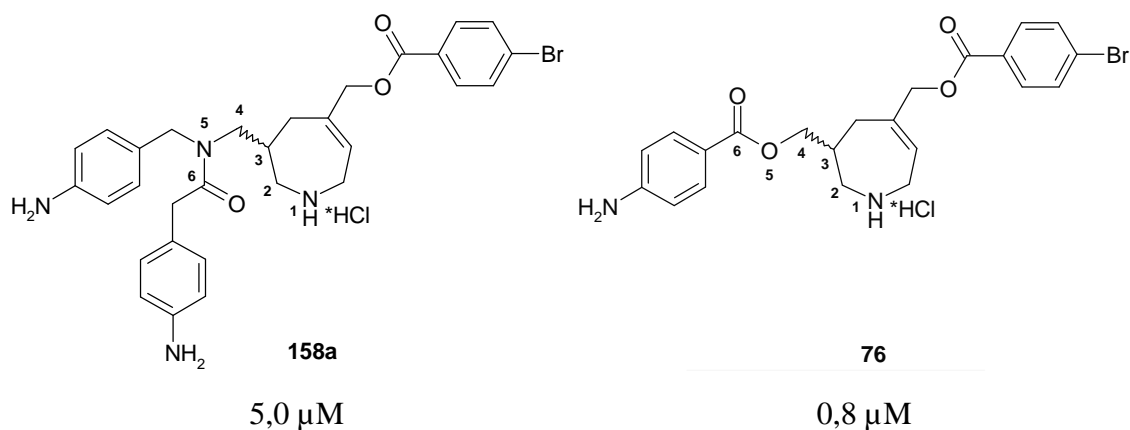


Abbildung 61: Experimentell bestimmte K_i -Werte: **158a** im Vergleich zu **76**.

Zu erkennen ist, dass sich der Inhibitions-Wert von **158a** im Vergleich zu **76** um den Faktor 6 verschlechtert hat. Durch die Einführung eines zusätzlichen Substituenten ist es leider nicht gelungen, die Affinität zu steigern. Nichtsdestotrotz gelang es von **158a** eine Komplexstruktur mit Endothiapepsin zu erhalten.

5.4. Röntgenstrukturanalyse in der Aspartyl-Protease Endothiapepsin

Die Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse wurde von Frau Helene Krüger im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Klebe durchgeführt.

Die Kristallisation im Enzym Plasmepsin, welches wie schon in der Einleitung beschrieben, zur Familie der pepsinartigen Aspartylproteasen (A1A) gehört, erwies sich als sehr problematisch. Als Modellsysteme wurden deshalb Kristallisationsansätze im Enzym Endothiapepsin, welches ebenfalls zur Subfamilie A1A gehört und sowohl zu Plm II als auch zu Plm IV eine 43%-ige Sequenz-Homologie aufweist, durchgeführt.^{98,99}

Endothiapepsin wird vom Pilz *Endothia parasitica* gebildet und wird bei der Herstellung von Käse verwendet. Es ist zusammengesetzt aus 330 Aminosäure-Resten, mit etwa 170 Resten in jeder Domäne. Mittels struktur-basiertem Design wurden aufbauend auf der Komplexstruktur mit Endothiapepsin schon zahlreiche Renin-Inhibitoren entwickelt und strukturell optimiert.¹⁰⁰

⁹⁸ Fujinaga M., Cherney M.M. et al., *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* **2000** Mar.; 56(Pt 3): 272-9.

⁹⁹ Cooper J., Foundling S. et al., *Eur. J. Biochem.* **1987** Nov 16;169(1):215-21.

¹⁰⁰ Coates, L. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 7235-7237.

In *Abbildung 62* ist eine Übereinanderlagerung der Kristallstrukturen von Plm II und Endothiapepsin dargestellt, die die hohe Ähnlichkeit der Faltungsmuster beider Enzyme widerspiegelt.

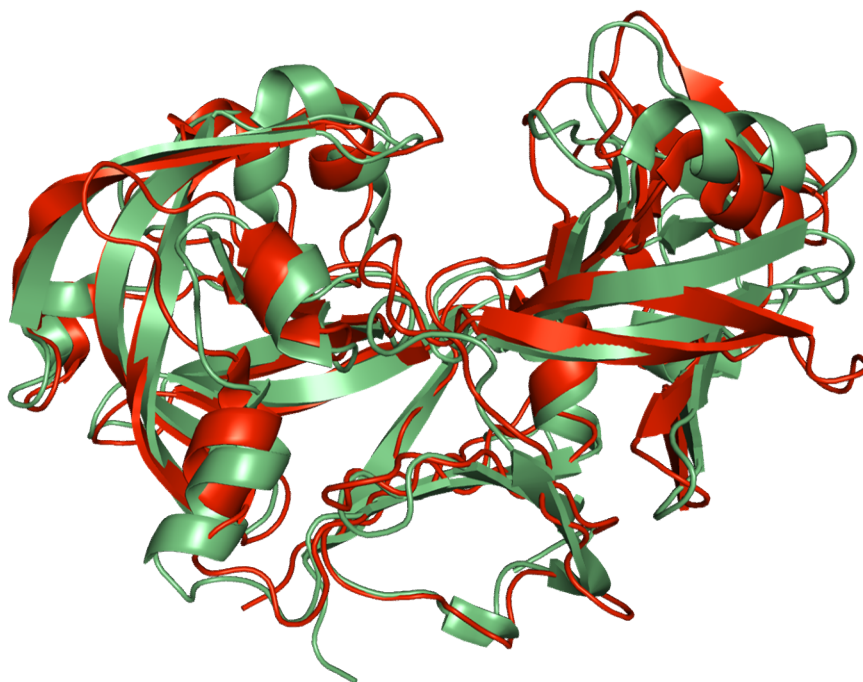


Abbildung 62: Übereinanderlagerung der Kristall-Strukturen von Plasmepsin II 1LF2 (grün) und Endothiapepsin 1E80 (rot), gebundener Ligand in den jeweiligen Strukturen ist nicht gezeigt. Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

Am Ende dieser Arbeit ist es Frau Helene Krüger gelungen, den dreiarmligen Inhibitor **158a** im Komplex mit Endothiapepsin zu kristallisieren und die Struktur mit einer Auflösung von 1.25 Å zu bestimmen.

Es soll an dieser Stelle nur auf den Bindungsmodus eingegangen werden, da die Kristallisation und die Röntgenstrukturanalyse Bestandteile einer anderen Arbeit sind.

Mit der Kristallstruktur, *Abbildung 63*, konnte belegt werden, dass die katalytische Diade (in Endothiapepsin gebildet von Asp 35 und Asp 219) vom protonierten Stickstoff des Azazyklus adressiert wird. In der Kristallstruktur wird nur das *R*-Enantiomer, des als Racemat zur Kristallisation verwendeten Inhibitors, beobachtet. Die Vorhersage unserer Modellierung-Studien, dass der *p*-Amino-Phenyl-Rest des P₂'-Substituenten Wasserstoffbrücken in Richtung S₂'-Tasche ausbildet und die Carbonyl-Funktionalität der Amid-Bindung in Richtung Flap-Region ausgerichtet ist, wird durch die Struktur bestätigt. Entgegen unserer Vorhersage ist der hydrophobe *p*-Brom-Substituent in die S₂-Tasche ausgerichtet, und der *p*-Amino-Phenylmethylen-Rest zeigt am Flap vorbei.

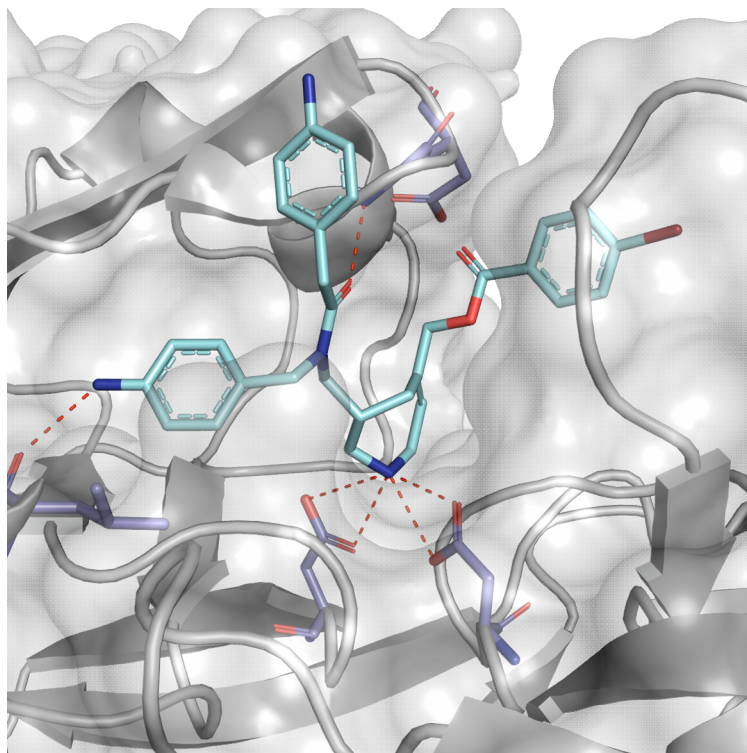


Abbildung 63: Röntgenkristallstruktur von **158a** (Sticks in hellblau, farbcodiert nach Atom-Typen) in Endothiapepsin (grau). Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

In der Kristallstruktur sind noch zwei weitere Bruchstücke des Inhibitors aufzufinden. Zum einem ein zweites Molekül des Inhibitors, das an der Ester-Funktionalität gespalten ist, und zum anderen ein *p*-Brom-benzoesäure-Rest. In den *Abbildungen 64a* und *64b* sind jeweils die Positionen der Moleküle im Enzym mit dem Inhibitor **158a** dargestellt.

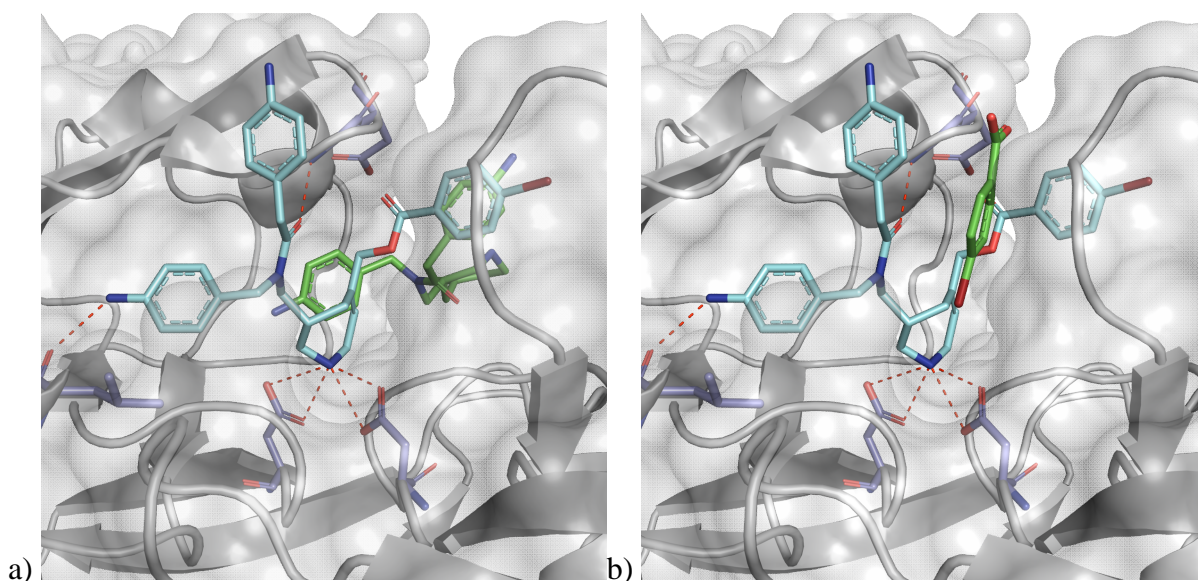


Abbildung 64: Röntgenkristallstruktur von **158a** und 2 Bruchstücken (Sticks in hellblau, farbcodiert nach Atom-Typen) in Endothiapepsin (grau). (a) **158a** mit gespaltenem Azepin-Derivat (b) **158a** mit *p*-Brom-benzoesäure-Rest. Zur Visualisierung wurde Pymol 0.99 verwendet.

Das Spalt-Produkt bildet in der S₁-Tasche mit dem *p*-Amino-Phenyl-Rest eine direkte Wasserstoff-Brücke zum Asp 35 aus. Das Amid-Carbonyl bildet eine Wasserstoff-Brücke zum Thr 223 aus.

Der *p*-Brom-benzoesäure-Rest bildet hydrophobe Wechselwirkungen aus. Der aromatische Ring befindet sich in paralleler Position zu Ile 300. Der *p*-Brom-Substituent liegt in direkter Nachbarschaft zu dem am Boden der Tasche befindlichen Ile 217 und zu Ile 302 und Ile 304.

5.5. Interpretation und Bewertung der Kristallstruktur

Mittels systematischer Optimierung der Substituenten des Azepin-Derivates ist erstmals die Kristallisation eines 2,3,4,7-Tetrahydro-1*H*-azepins in einer Aspartyl-Protease gelungen.

Aus der Kristallstruktur geht hervor, dass der protonierte Stickstoff des *R*-Enantiomers des Azepins die katalytische Diade adressiert. Vom dreiarmligen Inhibitor werden zwei Spezifitätstaschen adressiert und der Inhibitor bildet eine Wasserstoff-Brücke zur Flap-Region aus. Die Anwesenheit der Spaltprodukte eines zweiten Moleküls des Inhibitors deutet auf die Labilität der Ester-Funktionalität hin. Zur Abklärung, ob die Fragmente während der Kristallisation, der Röntgenstrukturmessung oder schon von Beginn an in der Probe enthalten waren, wurde zusätzlich neben der vollständigen Charakterisierung der Verbindung, deren Reinheit per HPLC überprüft.

Diese Reinheitsprüfung des Inhibitors **158a** mittels HPLC wurde von Herrn Frank Sielaff im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Steinmetzer durchgeführt.

Diese Untersuchung ergab, dass der Inhibitor eine Reinheit > 97% besitzt, was im allgemeinen als ausreichend angesehen wird.

Die Ähnlichkeit zwischen Endothiapepsin und Plasmepsin ist ausreichend hoch, um relevante Schlüsse aus der Komplexstruktur des Inhibitors **158a** zu ziehen. Diese Struktur legt damit den Grundstein mittels struktur-basiertem Design die Azepin-basierten Inhibitoren weiter zu optimieren, nicht nur hinsichtlich ihrer Affinität gegenüber Plasmepsinen, sondern auch bezüglich ihrer Selektivität gegenüber der humanen Aspartyl-Protease Cathepsin D.

Basierend auf den grundlegenden Ergebnissen dieser Arbeit soll nun in einer weiteren Arbeit diese Struktur-Optimierung vorgenommen und die racemische Synthesesequenz gegen eine stereoselektive ausgetauscht werden.

6. Zusammenfassung

Basierend auf dem Grundgerüst eines 2,3,4,7-Tetrahydro-1*H*-azepins, das in unserer Gruppe als neuer privilegierter Baustein zur Adressierung des katalytischen Zentrums in Aspartyl-Proteasen entwickelt wurde, gelang in dieser Arbeit die Optimierung dieser Leitstruktur zu nanomolaren Plasmepsin II Inhibitoren. Ausgehend von (*rac*)-3,5-Bis-hydroxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepin, welches mit seinem vermutlich protonierten endozyklischen Aminstickstoff die beiden katalytischen Aspartate adressiert, wurden durch Veresterung der beiden primären Hydroxy-Funktionalitäten dieses Kerngerüsts entsprechende Substituenten in Position 3 und 5 des Azazyklus eingefügt und so die Spezifitätstaschen von Plasmepsin II adressiert. Mittels Docking wurden die Reste für eine optimale Ausfüllung dieser beiden Subtaschen ausgewählt. Durch strukturelle Modifizierung in drei fortlaufenden Designzyklen gelang die strukturelle Optimierung der anfänglichen Leitstruktur, wie in *Abbildung 65* veranschaulicht.

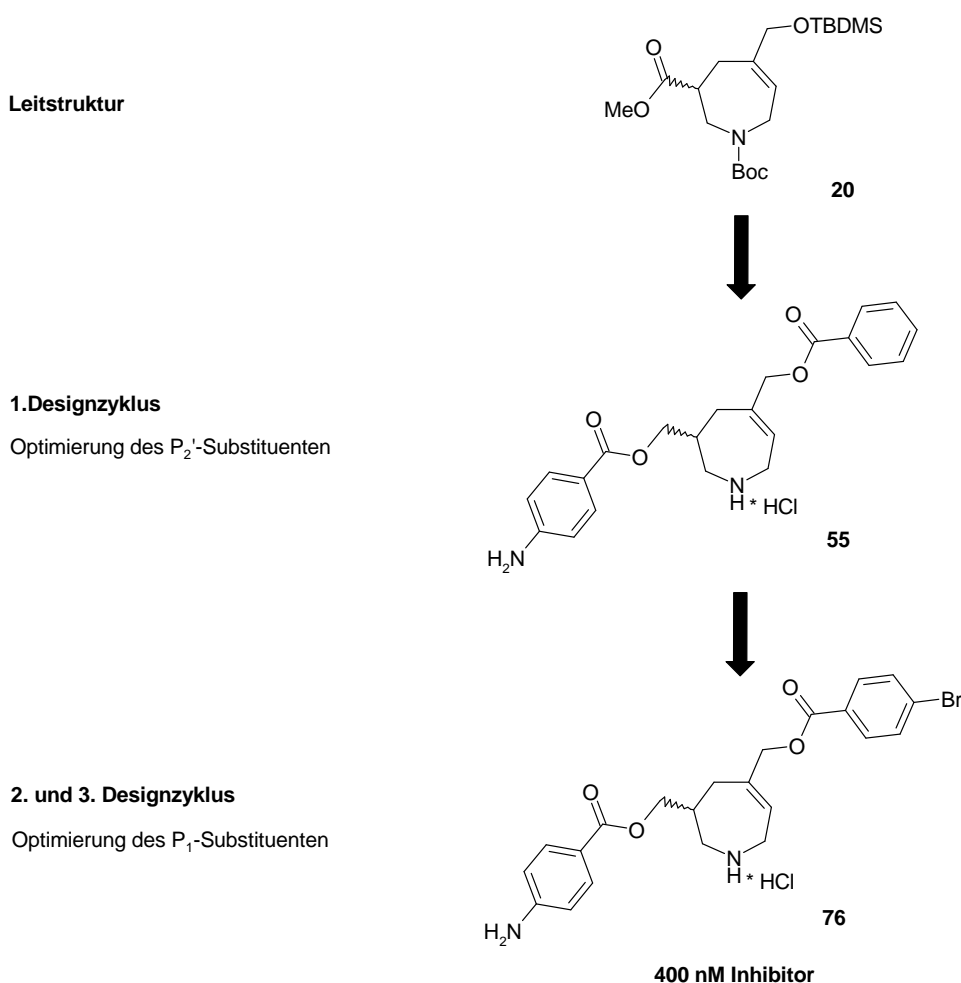


Abbildung 65: Entwicklung der Inhibitoren beginnend von der Leitstruktur bis hin zum nanomolaren Inhibitor.

Im Zuge der Planung eines systematisch und stufenweise aufeinander aufbauenden Inhibitor designs, entschieden wir uns für einen Phenyl-Rest als bestmöglichem Ausgangspunkt zur Adressierung der S_1 -Bindetasche von Plm II. Für die S_2' -Tasche wurden Dockinglösungen, die z.B. einen *p*-Amino-Phenyl-Substituenten tragen am besten bewertet.

Verbindung **55** zeigte einen K_i -Wert von 4,7 μM für Plm II und 7,2 μM für Plm IV. In Übereinstimmung mit unseren Modelling-Studien ist hier die Bedeutung der Amino-Gruppe in *para*-Position am Aromaten des Restes R^1 als Wasserstoff-Brücken-Donor zu erkennen. Bei Verbindung **59**, die diese Amino-Gruppe nicht besitzt, ist eine 60-fache Abnahme der Affinität zu verzeichnen (*Tabelle 11*).

In einem zweiten und dritten Design-Zyklus erfolgte nun die weitere Optimierung des P_1 -Substituenten. Als P_2' -Substituent wurde nun der zuvor optimierte *p*-Aminobenzoyloxymethyl-Substituent beibehalten. Im Vergleich zu der nur mit zwei Phenyl-Ringen substituierten Verbindung **59** konnte die Affinität der auf einem Azepin-Gerüst basierten Verbindungen in drei Design-Zyklen um den Faktor 700 für Plm II bzw. den Faktor 140 für Plm IV gesteigert werden. Die experimentell bestimmten K_i -Werte der Inhibitoren stehen im Großen und Ganzen im Einklang mit den Vorhersagen. Die gemessenen Affinitäten für Cathepsin D liegen überwiegend im mittleren dreistelligen mikromolaren Bereich, womit eine gewisse Selektivität der hier synthetisierten Verbindungen für Plm II und IV erreicht werden konnte. Beachtenswert ist vor allem, dass Verbindung **65** Plm II und Plm IV gleichermaßen gut inhibiert und zudem Selektivität zum humanen Cathepsin D aufweist.

Dass die Plasmepsine eine gewisse Toleranz hinsichtlich des Abstandes der den Flap-Bereich adressierenden Akzeptor-Funktionen zeigen, konnten wir in unserem Arbeitskreis kürzlich zeigen. Deshalb sollte auch im Fall der Azepin-basierten Inhibitoren durch systematische Variation der Carbonyl-Distanz der optimale Abstand der die Flap-Region adressierenden Akzeptor-Gruppen untersucht werden. Hierzu wurde eine zentrale Synthesezwischenstufe entwickelt, die sowohl die Darstellung von Inhibitoren mit verkürztem als auch weiterhin mit langem Akzeptor-Abstand erlaubt (*Abbildung 66*). Neben der Verkürzung des Carbonyl-Abstands sollte die Synthese aber auch die Einführung zusätzlicher Substituenten, die die S_1' - bzw. S_2 -Spezifitätstasche adressieren, erlauben.

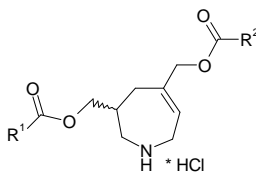


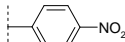


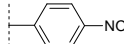
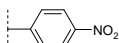

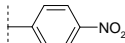
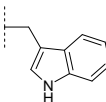


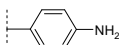

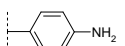

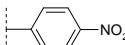

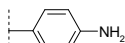
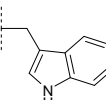
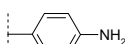
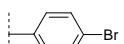
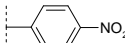

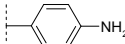

<div></div>																	
Nr.	R¹	R²	<i>K_i</i> [μM] Plm II	<i>K_i</i> [μM] Plm IV	<i>K_i</i> [μM] Cat D	Nr.	R¹	R²	<i>K_i</i> [μM] Plm II	<i>K_i</i> [μM] Plm IV	<i>K_i</i> [μM] Cat D	Nr.	R¹	R²	<i>K_i</i> [μM] Plm II	<i>K_i</i> [μM] Plm IV	<i>K_i</i> [μM] Cat D
59			303	211	>>320	62			4,7	43,4	>100	73			28,8	29,0	285
54			28,8	38,6	348	63			1,3	3,9	51	75			7,6	9,9	255
55			4,7	7,2	260	64			2,4	15,9	>100	74			49,0	68,8	178
						65			1,0	1,5	262	76			0,4	5,7	165
												78			10,9	22,1	21
												79			0,8	3,2	142
1. Designzyklus						2. Designzyklus						3. Designzyklus					

Tabelle 11: Ermittelte Affinitäten der ersten drei Designzyklen.

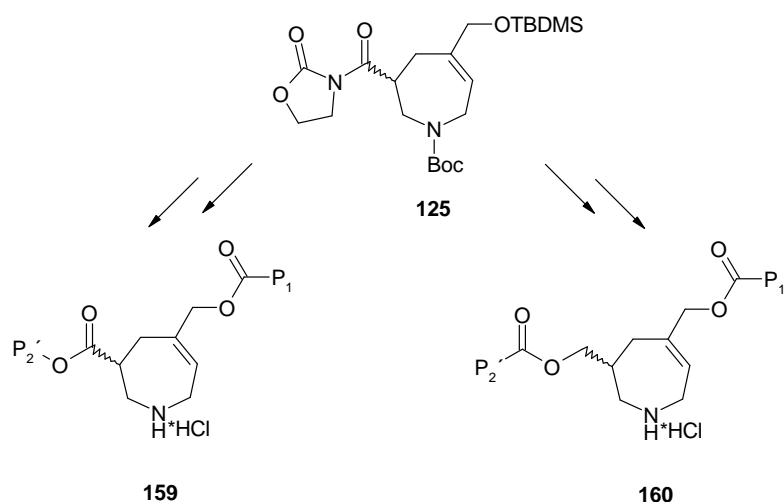


Abbildung 66: Zentraler Synthesebaustein von Inhibitoren mit kurzem oder langem Akzeptor-Abstand.

Ausgehend von dem bereits bekannten Boc-geschützten β -Aminoester **18** gelang die Verseifung des Methylesters zur Carbonsäure **121**. Anschließend *in situ* Umsetzung mit Pivaloylchlorid führte zum gemischten Anhydrid **122**, welches mit dem Lithium-Salz des Oxazolidinons **123** zum entsprechenden Oxazolidinon-Derivat **109** in einer Ausbeute von 85% umgesetzt wurde (Abbildung 67).

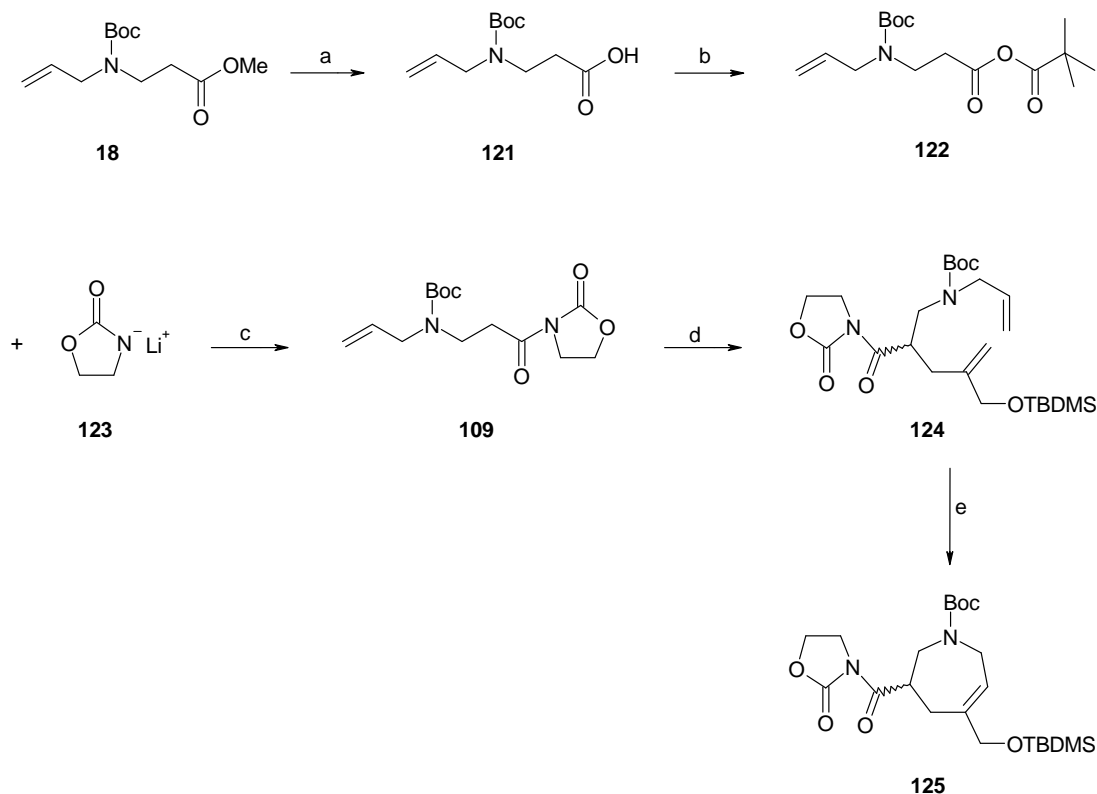


Abbildung 67: Gesamtsynthese des zentralen Synthesebausteins **125**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) 1 M LiOH, MeOH, RT, 1 h, 91%; (b) Pivaloylchlorid, *N*-Methyl-morpholin, 0°C, 1 h; (c) THF, -78°C, 2 h, RT, 14 h, 85%; (d) **126**, NaHMDS, THF, -40°C, 5 h, 58%; (3) Grubbs-Katalysator II 2mol%, DCM, 40°C, 5 h, 94%.

Mittels Alkylierung von **109** mit dem allylischen iodierten Fragment **126** und der Verwendung von NaHMDS wurde die Dien-Vorstufe **124** gewonnen, welche mit dem Grubbs Katalysator der 2. Generation (2 mol%) zu unserer gewünschten zentralen Zwischenstufe **125** ringgeschlossen wurde in einer fast quantitativen Ausbeute von 94%.

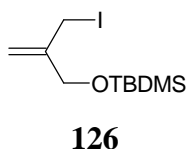


Abbildung 68: Allylisches iodiertes Fragment.

Die Verbindung **131** zeigte ebenfalls eine Affinität im mittleren mikromolaren Bereich, d.h. die Affinität hat sich nicht signifikant verändert im Vergleich zur entsprechenden Verbindung mit langem Akzeptor-Abstand (**74**, siehe *Tabelle 11*). Folglich scheint die alleinige Verkürzung des Carbonyl-Abstandes keinen entscheidenden Einfluss auf die Affinität der Verbindung zu haben. Die Verkürzung des Akzeptor-Abstands sollte zu einer Verbesserung der Wechselwirkung des Inhibitors in der Flap-Region führen. Da auch diese Inhibitoren nur zwei Spezifitätstaschen adressieren sollten nun durch die Einführung weiterer Substituenten zusätzliche Taschen adressiert werden, in der Hoffnung, dass dies zu einer Affinitätssteigerung der Inhibitoren gegenüber Plm II bzw. Plm IV führt.

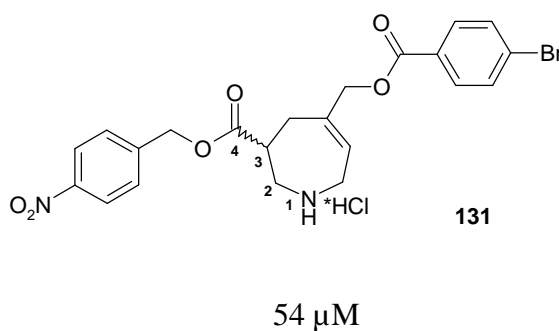


Abbildung 69: Experimentell bestimmter K_i -Wert von **131** gegen Plm II.

Aus der zentralen Synthesezwischenstufe **125** war auch die Darstellung entsprechender drei Spezifitätstaschen adressierender Inhibitoren möglich. Auch hier wurde wiederum der Abstand der Akzeptor-Gruppen variiert (*Abbildung 70*).

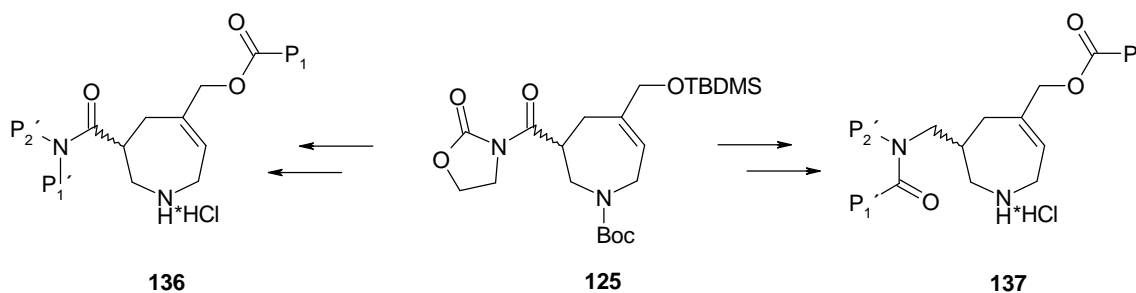


Abbildung 70: Oxazolidinon-Derivat **125** als zentrale Zwischenstufe.

Der Inhibitor **151** mit einem verkürzten Carbonyl-Abstand weist einen K_i -Wert von 11,5 μM gegen Plm II auf. Der entsprechende zweiarmige Inhibitor **131** besitzt einen K_i -Wert von 54 μM , so dass in diesem Fall die Affinität zum Enzym um ein 5-faches erhöht wurde.

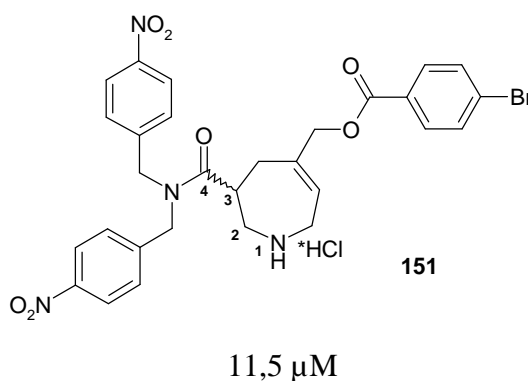


Abbildung 71: Experimentell bestimmter K_i -Wert von **151** gegen Plm II.

Die im zweiten Designzyklus dargestellten Inhibitoren mit längerem Akzeptor-Abstand weisen alle Inhibitions-Werte im unteren mikromolaren Bereich auf und unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Tabelle 12). Darüber hinaus zeigt sich, dass sich die Affinität des Inhibitors **158a** im Vergleich zum Inhibitor **76** (Tabelle 11) sogar um den Faktor 6 verschlechtert hat. Durch die Einführung eines zusätzlichen Substituenten ist es leider nicht gelungen, die Affinität zum Zielenzym zu steigern. Nichtsdestotrotz gelang es von **158a** eine Komplexstruktur mit Endothiapepsin zu erhalten.

Die Kristallstruktur belegt, dass das Azepin-Grundgerüst mit seinem protonierten Stickstoff die Aspartate der katalytischen Diade adressiert. In der Kristallstruktur wird nur das *R*-Enantiomer, des als Racemat zur Kristallisation verwendeten Inhibitors, beobachtet. Die Vorhersage unserer Modelling-Studien, dass der *p*-Amino-Phenyl-Rest des P_2' -Substituenten

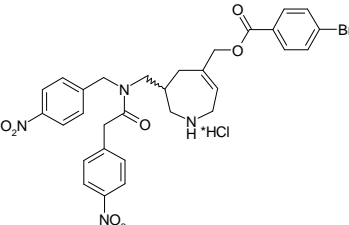
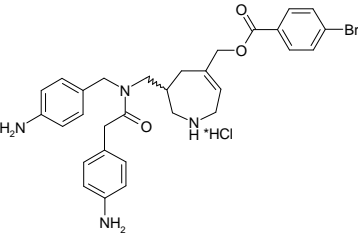
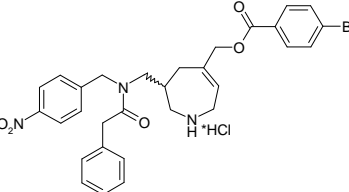
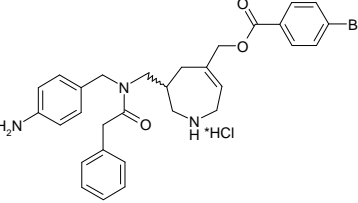
Nr.	Formel	K_i [μ M] Plm II	Nr.	Formel	K_i [μ M] Plm II
157a		11,5	158a		5,0
157b		7,5	158b		8,3

Tabelle 12: Experimentell bestimmte Affinitätsdaten dreiarmer Inhibitoren mit längerem Carbonyl-Abstand.

Wasserstoffbrücken in Richtung S_2' -Tasche ausbildet und die Carbonyl-Funktionalität der Amid-Bindung in Richtung Flap-Region ausgerichtet ist, wird durch die Struktur bestätigt. Entgegen unserer Vorhersage ist der hydrophobe *p*-Brom-Substituent in die S_2 -Tasche ausgerichtet, und der *p*-Amino-Phenylmethylen-Rest zeigt am Flap vorbei. Vermutlich bleibt deshalb auch der erhoffte Affinitätsgewinn der dreiarmer Inhibitoren aus.

Die Ähnlichkeit zwischen Endothiapepsin und Plasmepsin ist ausreichend hoch, um relevante Schlüsse aus der Komplexstruktur des Inhibitors **158a** zu ziehen. Diese Struktur legt damit den Grundstein nun mittels struktur-basiertem Design die Azepin-basierten Inhibitoren weiter zu optimieren, nicht nur hinsichtlich ihrer Affinität gegenüber den Plasmepsinen, sondern auch bezüglich ihrer Selektivität gegenüber der humanen Aspartyl-Protease Cathepsin D.

Basierend auf den grundlegenden Ergebnissen dieser Arbeit soll nun in einer weiteren Arbeit diese Strukturoptimierung vorgenommen und die racemische Synthesesequenz gegen eine stereoselektive ausgetauscht werden. Darüber hinaus sollte die Ester-Bindung durch eine Amid-Bindung ersetzt werden, um die hydrolytische Stabilität des Inhibitors zu erhöhen.

Experimenteller Teil

7. Experimenteller Teil

7.1. Abbreviations

ACN	Acetonitrile
Boc	<i>tert</i> -Butyl-oxycarbonyl
(Boc) ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyl dicarbonate
DCM	Dichloromethane
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydride
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimide
DIPEA	<i>N,N'</i> -Diisopropylethylamine
DMAP	4-Dimethylaminopyridine
DMF	Dimethylformamide
DMPU	1,3-Dimethyl-3,4,5,6,-tetrahydro-2(1 <i>H</i>)pyrimidinone, <i>N,N'</i> -Dimethylpropylenurea
DMSO	Dimethylsulfoxide
EDCI-HCl	1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride
EtOAc	Ethylacetate
Et ₂ O	Diethylether
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamide
HOAc	Acetic acid
1-HOBT	1-Hydroxybenzotriazole
LDA	Lithiumdiisopropylamide
MeOH	Methanol
NaBH ₃ CN	Sodium cyanoborohydride
NaBH ₄	Sodium borohydride
NaHMDS	Sodium hexamethyldisilazane
RCM	ring-closing-metathesis
TBDMS	<i>tert</i> -Butyl-dimethylsilyl
TBDMSCl	<i>tert</i> -Butyl-dimethylsilylchloride
TEA	Triethylamine
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilane
TPP	Triphenylphosphine

7.2. General

Reported **yields** refer to the analytically pure product obtained by column chromatography or distillation.

All ^1H and ^{13}C **NMR spectra** were recorded on a Jeol Eclipse + 500 MHz spectrometer (^1H NMR: 500 MHz, ^{13}C NMR: 125 MHz). Chemical shifts are reported in parts per million (ppm) and were referenced to TMS at 0.00 ppm (^1H) except for spectra of compounds containing a silyl protecting group, which were referenced to the residual CHCl_3 in CDCl_3 at 7.24 ppm. ^{13}C NMR spectra were referenced to CDCl_3 at 77.0 ppm or $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ at 39.5 ppm. NMR spectra were recorded in CDCl_3 unless otherwise indicated.

Abbreviations for signal multiplicities in ^1H and ^{13}C NMR spectra:

bd	broad doublet
bdd	broad doublet of doublets
bm	broad multiplet
bs	broad singlet
bt	broad triplet
d	doublet
dd	doublet of doublets
ddt	doublet of doublets of triplets
dt	doublet of triplets
dq	doublet of quartets
m	multiplet
q	quartet
quint	quintet
s	singlet
sm	symmetric multiplet
t	triplet
ps	pseudo
pss	pseudo singlet
pst	pseudo triplet

Coupling constants J are indicated in Hertz (Hz).

Abbreviations for the working methods:

COM	Single Pulse C omplete Decoupling Experiment
APT	Attached P roton T est

The **spectra were processed** with “Delta NMR Processing and Control Software” from Jeol Inc. USA.

Attributions labeled with *) are unconfident.

MS data were obtained from a double-focusing sector field spectrometer type 7070 H (Vacuum Generators) or by a double-focusing sector field spectrometer type VG-Auto-Spec (Micromass).

Combustion analyses were determined on a Vario Micro Cube (Elementar Analysen, GmbH).

Flash column chromatography was performed using silica gel 60 (0.05-0.1 mm) or silica gel 60 (0.04-0.063 mm) purchased from Macherey-Nagel.

Manual column chromatography were operated using glass columns with diameters ranging from 3 to 10 cm and a filling height of max. 35 cm.

In many cases the purifications were done as automated flash chromatography at a preparative chromatography system (Sepacore[®], Büchi) with a 3 pump module at a flow rate of 20 mL/min. For packing the cartridges, Cartridger[®] was used purchased from Büchi. The detection was carried out using a deuterium lamp UV/VIS filterphotometer with preparative measuring cell incl. 4 filters; 200 nm, 220 nm, 254 nm, and 280 nm. The data were collected electronically and analyzed by a Sepacord[®] Record Software (Büchi). The fractions were collected by a fraction collector C-660 (Büchi).

Bulb to bulb distillation was carried out using a Kugelrohr-Glasofen B-585 purchased from Büchi.

TLC was carried out using aluminium plates (0.2 mm) coated with silica gel 60 F₂₅₄ (Merck), and the products were visualized by UV detection, iodine, or by phosphomolybdic acid (“blue stain”).

Melting points were determined on a Mettler Toledo FP62 instrument and are uncorrected.

Solvents and reagents that are commercially available were used without further purification unless otherwise noted.

THF was dried by distillation from sodium/benzophenone.

All **moisture-sensitive reactions** were carried out using oven-dried glassware under a positive stream of argon.

Commercially available **inert gas** (nitrogen or argon) was directly used without further drying.

Dichlormethane used for ring-closing-metathesis was purchased in p.a. quality and degassed under standard conditions.

Grubbs catalysts 1st and 2nd Generation were purchased from Sigma-Aldrich.

7.3. Experimental procedures and data of the synthesized compounds

General procedures

Method A:

To a stirred solution of the respective alcohol (1.0 equiv.) in a 1:1 mixture of THF and DCM were added the appropriate carboxylic acid (1.2 equiv.) and DMAP (5 mol%) followed by the addition of a solution of DIC (1.3 equiv.) in the above solvent mixture at room temperature. The reaction mixture was stirred for 12 h and then carefully quenched by addition of a saturated NaHCO_3 solution. After addition of diethyl ether, the layers were separated. The organic layer was filtered, and the residue was washed three times with diethyl ether. The combined filtrates were washed twice with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure.

Method B:

A suspension of the respective BOC-protected derivative (1.0 equiv.) in a 2.0 M solution of hydrogen chloride in diethyl ether (20.0 equiv.) was stirred for 24 hours at room temperature. The resulting precipitate was separated by filtration under a positive pressure of argon, thoroughly washed with dry diethyl ether, and dried.

Method C:

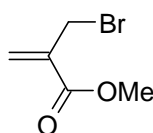
To a solution of the corresponding *p*-nitrophenyl derivative (1.0 equiv.) in ethyl acetate, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5.0 equiv.) was added. The reaction mixture was stirred for 3 h at 80°C and then allowed to reach room temperature. The reaction was quenched through careful addition of a saturated NaHCO_3 solution, until a pH of 7-8 was obtained. The layers were separated, and the aqueous layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed twice with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. After column chromatography, the oily residue was treated with 20.0 equiv. of a 2.0 M solution of hydrogen chloride in diethyl ether and stirred for 24 hours at room temperature. The resulting precipitate was separated by filtration under a positive pressure of argon, thoroughly washed with dry diethyl ether, and dried.

Method D:

The corresponding TBDMS-protected compound (1.0 equiv.) was dissolved in a 30:1 mixture of THF and aqueous HCl 32% and stirred at room temperature for 30 min. After addition of a saturated NaHCO₃ solution, the reaction mixture was extracted three times with diethyl ether. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure.

Method E:

The respective carboxylic acid (1.2 equiv.), 1-HOBT (1.2 equiv.) and EDCI-HCl (1.5 equiv.) were added to a solution of the corresponding amine or alcohol (1.0 equiv.) in DMF at room temperature. The reaction mixture was kept for 4 h at 50°C in an ultrasonic bath. After addition of EtOAc, the solution was quenched with a 2.0 M Na₂CO₃ solution. The layers were separated, and the organic layer was extracted once with a saturated NH₄Cl solution, washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure.

2-Bromomethyl-acrylic acid methyl ester (48)

To a solution of triphenylphosphine (TPP, 5.120 g, 19.53 mmol, 1.1 equiv.) in DCM (30 mL), a solution of bromine (1 mL, 19.52 mmol, 1.1 equiv.) in 10 mL of DCM was added dropwise at 0°C. The reaction mixture was stirred until a colourless precipitate indicated the formation of the desired phosphonium salt, which was then added slowly to a solution of imidazole (1.450 g, 21.30 mmol, 1.2 equiv.) and 2-hydroxymethyl-acrylic acid methyl ester (2.060 g, 17.75 mmol, 1.0 equiv.) in 30 mL DCM at 0°C. After stirring for 20 min maintaining the temperature at 0°C, the reaction mixture was poured into an ice-water mixture and extracted twice with *t*-BuOMe. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residual slurry was re-dissolved in a small amount of DCM and added dropwise into hexane giving rise to a suspension, which was filtered and washed thoroughly. After concentration of the filtrate

After stirring for 30 min, 4 mL of DMPU were added, followed by the addition of a solution of allyl bromide derivative **48** (0.328, 2.0 mmol, 1.0 equiv.) in THF. This reaction mixture was warmed to -40°C and kept at this temperature until TLC indicated the completion of the reaction (approx. 4 h). After subsequent addition of Et₂O and a saturated NH₄Cl solution, the organic layer was separated and the aqueous layer was extracted twice with diethyl ether. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The remaining product was purified by flash chromatography (hexane/*t*-BuOMe: 4:1) and gave rise to 0.341 g (50%) of **49** as a colorless oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 23.0°C, 500.16 MHz, rotamers):

δ _H (ppm) = 6.19	d, 1H, ³ <i>J</i> = 1.2 Hz; CH ₂ =CH
5.80 – 5.70	sm, 1H; CH ₂ =C-COO-CH ₃
5.61	psd, 1H, ² <i>J</i> = 18.3 Hz; CH ₂ =C-COO-CH ₃
5.12	bs, 2H; CH ₂ =CH
3.98	d, 0.5H, ² <i>J</i> = 14.9 Hz; N-CH ₂ -CH=CH ₂
3.88 – 3.80	m, 0.5H; N-CH ₂ -CH=CH ₂
3.73	s, 3H; CH ₂ =C-COO-CH ₃
3.73 – 3.67	m, 1H; N-CH ₂ -CH=CH ₂
3.64	s, 3H; CH-COO-CH ₃
3.43 – 3.30	bm, 2H; N-CH ₂ -CH-CH ₂
3.08 – 3.02	sm, 1H; CH ₂ -CH-CH ₂
2.63 – 2.45	bm, 2H; N-CH ₂ -CH-CH ₂
1.47	s, 4.5H; N-COO-C(CH ₃) ₃
1.44	s, 4.5H; N-COO-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 25.4°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 174.4	CH ₂ =C-COO-CH ₃
166.9, 166.8	CH ₂ -CH-COO-CH ₃
155.4, 155.2	N-COO-C(CH ₃) ₃
137.2	CH ₂ =CH
133.8, 133.7	CH ₂ =C-COO-CH ₃
127.1	CH ₂ =C-COO-CH ₃
116.6, 116.1	CH ₂ =CH

80.0, 79.7	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
51.9	CH ₂ =C-COO- <u>CH</u> ₃	
51.6	CH-COO- <u>CH</u> ₃	
50.4, 49.8	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	*)
48.6	CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂	
44.0, 43.6	N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
32.8, 32.3	N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C	
28.3	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃	

MS (ES+):

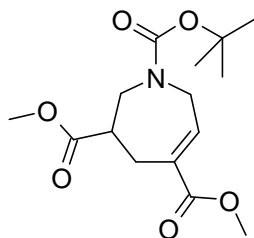
m/z (%) = 364 (100, [M+Na]⁺), 705 (23, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES+):

m/z	calculated for C ₁₇ H ₂₈ NO ₆	: 342.191663
	found	: 342.191758

EA:	C ₁₇ H ₂₇ NO ₆	(341.41 g/mol)
	calcd.: C: 59.81	H: 7.97 N: 4.10
	found: C: 59.86	H: 8.02 N: 4.28

2,3,4,7-Tetrahydro-azepine-1,3,5-tricarboxylic acid 1-*tert*-butyl ester 3,5-dimethyl ester (50)



A solution of **49** (0.341 g, 1.0 mmol, 1.0 equiv.) in 90 mL of thoroughly degassed DCM was heated to 40°C and benzyliden-[1,3-bis-(2,3,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinylidene]-dichloro-(tricyclohexylphosphine)-ruthenium (0.043 g, 0.05 mmol, 5 mol%, Grubbs 2 catalyst), dissolved in 5 mL of degassed DCM, was added to the reaction mixture. After stirring for 8 h

at 40°C, the reaction mixture was allowed to reach room temperature and stirred for 12 h at ambient temperature. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure followed by column chromatography (hexane/*t*-BuOMe: 2:1) of the oily residue which gave rise to 0.244 g (84%) of **50** as a colorless oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 23.4°C, 500.16 MHz, rotamers):

δ _H (ppm) = 6.92	s, 1H; ² <i>J</i> = 16.7 Hz; <u>CH</u> =C
4.33	d, 0.60H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C
4.27	d, 0.43H, ² <i>J</i> = 18.6 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C
4.13	dd, 0.59H, ² <i>J</i> = 17.2 Hz, ³ <i>J</i> = 3.9 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C
4.00	dd, 0.43H, ² <i>J</i> = 18.3 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C
3.93	dd, 0.45H, ² <i>J</i> = 14.0 Hz, ³ <i>J</i> = 6.4 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂
3.80 – 3.77	m, 0.40H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂
3.77	s, 1.33H; CH=C-COO- <u>CH</u> ₃
3.75	s, 1.68H; CH=C-COO- <u>CH</u> ₃
3.71	s, 1.7H; CH-COO- <u>CH</u> ₃
3.69	s, 1.29H; CH-COO- <u>CH</u> ₃
3.69 – 3.60	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂
3.05 – 2.94	m, 1H; N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂
2.88 – 2.78	m, 2H; N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂
1.47	s, 5.39H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
1.46	s, 3.97H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 25.3°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 173.5	CH=C- <u>C</u> OO-CH ₃
167.3	CH ₂ -CH- <u>C</u> OO-CH ₃
155.0	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
139.2, 139.1	<u>C</u> =CH
131.6, 130.5	C= <u>CH</u>
80.3, 80.2	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
52.0	CH=C-COO- <u>CH</u> ₃
51.8	CH-COO- <u>CH</u> ₃
47.5	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C *)
47.2, 47.1	N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C *)

42.6, 42.2	CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂
28.2	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
25.7, 25.0	N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C

MS (ES⁺):

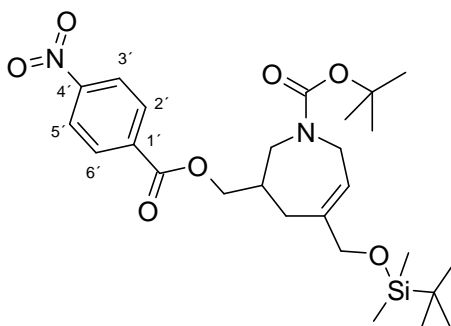
m/z (%) = 336 (100, [M+Na]⁺), 649 (86, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z calculated for C₁₅H₂₃NO₆Na : 336.142307

found : 336.140934

**5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-
2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (**52**)**



Compound **52** was prepared according to general procedure (method A). Reaction of **21** (0.520 g, 1.40 mmol, 1.0 equiv.) with *p*-nitrobenzoic acid (0.281 g, 1.68 mmol, 1.2 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:1) afforded 0.519 g (71%) of **52** as a yellow oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 24.7°C, 500.16 MHz, rotamers):

δ _H (ppm) = 8.27	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3' / H-5'
8.20	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.5 Hz; H-2' / H-6'
5.73	bs, 1H; <u>CH</u> =C
4.26	d, 2H, ³ <i>J</i> = 6.6 Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.97	s, 2H; <u>CH</u> ₂ -OTBDMS
4.08 - 3.89	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH

3.70 -3.59	m, 1H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C
3.48	sm, 1H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C
2.46 – 2.34	bm, 1H; OCH ₂ -CH-CH ₂ -N
2.31 – 2.20	bt, 1H; CH-CH ₂ -C=C
2.13	dd, 1H, ² J=14.8, ³ J=8.6 Hz; CH-CH ₂ -C=C
1.42	s, 9H; N-COO-C(CH ₃) ₃
0.86	s, 9H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃
0.02	s, 6H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 25.6°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 164.4	COOCH ₂	
155.4, 155.1	N-COO-C(CH ₃) ₃	
150.5	C-4'	
139.9, 138.9	C=CH	
135.5, 135.4	C-1'	
130.7, 130.6	C-2' / C-6'	
123.5	C-3' / C-5'	
122.2, 122.1	C=CH	
79.7, 79.5	N-COO-C(CH ₃) ₃	
67.8, 67.7	CH ₂ -OTBDMS	*)
67.4	OCH ₂ -CH	*)
49.2, 49.1	N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
46.3	N-CH ₂ -CH=C	*)
36.9, 36.5	N-CH ₂ -CH-CH ₂	
29.3, 28.8	N-CH ₂ -CH-CH ₂	
28.4, 28.3	N-COO-C(CH ₃) ₃	
25.8	O-Si((CH ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	
18.3	O-Si((CH ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	
-5.37	O-Si((CH ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	
-5.43	O-Si((CH ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	

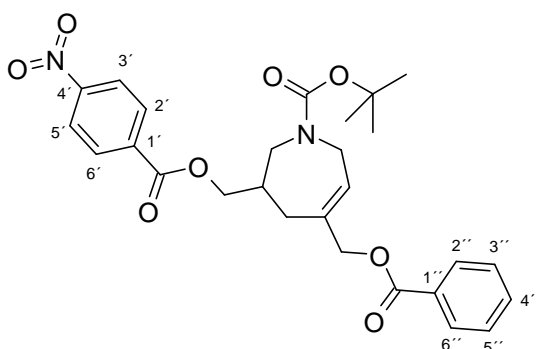
MS (ES+):

m/z (%) = 543 (46, [M+Na]⁺), 1063 (100, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₂₆ H ₄₁ N ₂ O ₇ Si	: 521.268306
	found	: 521.270468

**5-Benzoyloxymethyl-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-
azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (53)**



To a stirred solution of **67** (0.130 g, 0.32 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (5 mL) were added TEA (0.06 mL, 0.42 mmol, 1.3 equiv.) and a catalytic amount of DMAP at 0°C. The reaction mixture was allowed to reach room temperature followed by the dropwise addition of a solution of benzoyl chloride (0.04 mL, 0.35 mmol, 1.1 equiv.) in DCM (0.5 mL) and stirred for 14 h at ambient temperature. After addition of *t*-BuOMe (10 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated NH₄Cl-solution (10 mL) and the aqueous layer was extracted twice with *t*-BuOMe. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. Column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 4:1) afforded 0.142 g (87%) of **53** as colorless oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 23.0°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 8.20	sm, 2H; H-3' / H-5'
8.13	sm, 2H; H-2' / H-6'
8.01	d, 2H, ³ <i>J</i> = 7.6 Hz; H-2'' / H-6''
7.58 – 7.52	m, 1H; H-4''
7.45 – 7.38	m, 2H; H-3'' / H-5''
5.96 – 5.89	m, 1H; <u>CH</u> =C
4.74	s, 2H; <u>CH</u> ₂ O-CO- <i>Phenyl</i>

4.40 – 4.34	m, 1H; OCH ₂ -CH
4.26	dd, 1H, $^2J = 11.0$, $^3J = 7.3$ Hz; OCH ₂ -CH
4.17 – 3.95	m, 2H; N-CH ₂ -C=CH
3.75 – 3.65	m, 1H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C
3.60 – 3.49	m, 1H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C
2.60 – 2.43	m, 2H; CH-CH ₂ -C=C
2.34	dd, 1H, $^2J = 15.4$, $^3J = 8.7$ Hz; OCH ₂ -CH-CH ₂ -N
1.45	s, 9H; N-COO-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 27.5°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 166.1	<u>C</u> O-Phenyl	
164.3	<u>C</u> OOCH ₂ -CH	
155.3, 155.0	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃	
150.4	C-4'	
135.5, 135.2	<u>C</u> =CH *)	
135.1, 134.5	C-1' *)	
133.0	C-2' / C-6'	
130.5	C-2'' / C-6''	
129.8	C-4''	
129.4	C-3' / C-5'	
128.3	C-3'' / C-5''	
127.5, 127.2	C-1''	
123.3	C= <u>C</u> H	
80.0, 79.8	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
69.4	O <u>C</u> H ₂ -C=CH	
67.3	O <u>C</u> H ₂ -CH	
48.9	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C	*)
46.3	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
37.0, 36.6	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂	
29.7, 29.2	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂	
28.3	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃	

MS (ES⁺):

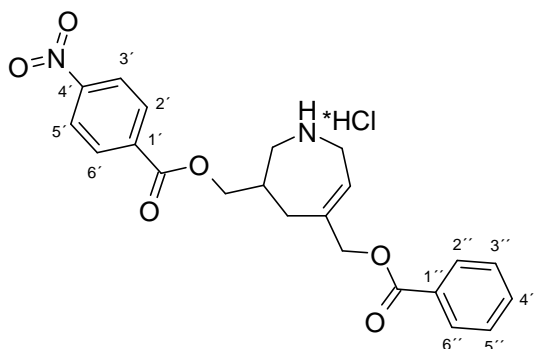
m/z (%) = 533 (100, [M+Na]⁺), 1043 (21, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₂₇ H ₃₁ N ₂ O ₈	: 511.208041
	found	: 511.209535

EA:	C ₂₇ H ₃₀ N ₂ O ₈			(510.55 g/mol)
	calcd.:	C: 63.52	H: 5.92	N: 5.49
	found:	C: 63.50	H: 6.08	N: 5.31

5-Benzoyloxymethyl-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepine hydrochloride (54)



According to the general procedure (method B), employment of **53** (0.100 g, 0.196 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.080 g (91 %) of **54** as a colorless solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 20.9°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 9.47	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
9.13	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
8.29	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-3' / H-5'
8.20	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-2' / H-6'
7.98	d, 2H, ³ <i>J</i> = 7.3 Hz; H-2'' / H-6''
7.67	t, 1H, ³ <i>J</i> = 7.3 Hz; H-4''
7.51	t, 2H, ³ <i>J</i> = 7.6 Hz; H-3'' / H-5''

5.93	t, 1H, $^3J = 4.8$ Hz; $\underline{\text{CH}}=\text{C}$
4.82	d, 1H, $^2J = 13.5$ Hz; $\underline{\text{CH}}_2\text{O-CO-Phenyl}$
4.78	d, 1H, $^2J = 13.3$ Hz; $\underline{\text{CH}}_2\text{O-CO-Phenyl}$
4.33	d, 2H, $^3J = 5.7$ Hz; $\text{O}\underline{\text{CH}}_2\text{-CH}$
3.84 – 3.70	m, 2H; $\text{N-}\underline{\text{CH}}_2\text{-C=CH}$
3.51	bd, 1H, $^2J = 13.5$ Hz; $\text{N-}\underline{\text{CH}}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$
3.31 – 3.20	m, 1H; $\text{N-}\underline{\text{CH}}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$
2.62	dd, 1H, $^2J = 15.6$ Hz, $^3J = 10.5$ Hz; $\text{OCH}_2\text{-}\underline{\text{CH}}\text{-CH}_2\text{-N}$
2.50 – 2.40	m, 2H; $\text{CH-}\underline{\text{CH}}_2\text{-C=C}$

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 23.4°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 165.4	$\underline{\text{CO-Phenyl}}$
164.2	$\underline{\text{COOCH}}_2\text{-CH}$
150.4	C-4'
141.6	$\underline{\text{C}}=\text{CH}$
134.9	C-1'
133.6	C-4''
130.8	C-2'/C-6'
129.5	C-1''
129.3	C-2''/C-6''
128.9	C-3''/C-5''
123.9	C-3'/C-5'
120.9	$\text{C}=\underline{\text{CH}}$
68.0	$\text{O}\underline{\text{CH}}_2\text{-C=CH}$
67.0	$\text{O}\underline{\text{CH}}_2\text{-CH}$
49.6	$\text{N-}\underline{\text{CH}}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$ *)
42.8	$\text{N-}\underline{\text{CH}}_2\text{-CH=C}$ *)
33.4	$\text{N-CH}_2\text{-}\underline{\text{CH}}\text{-CH}_2$
30.5	$\text{N-CH}_2\text{-CH-}\underline{\text{CH}}_2$

MS (ES+):

m/z (%) = 411 (100, $[M+H]^+$)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₂₂ H ₂₃ N ₂ O ₆	: 411.155612
	found	: 411.156088

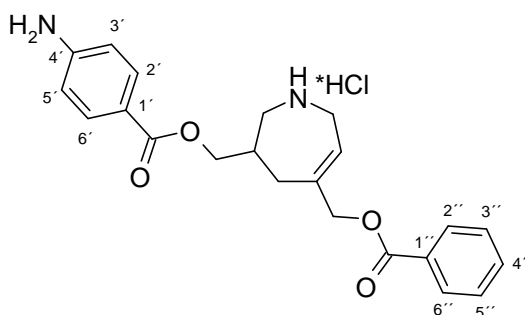
EA: C₂₂H₂₃N₂O₆Cl*1H₂O (464.91 g/mol)

calcd.: C: 56.84 H: 5.42 N: 6.03

found: C: 57.00 H: 5.20 N: 5.88

Melting point: 226°C

3-(4-Amino-benzoyloxymethyl)-5-benzoyloxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepine hydrochloride (55)



Following the general procedure (method C), utilization of **53** (0.150 g, 0.294 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.059 g (48%) of **55** as a brownish solid after column chromatography (DCM/MeOH: 93:7).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 7.98	dd, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz, ⁴ <i>J</i> = 1.0 Hz; H-2' / H-6''
7.68 – 7.63	m, 3H; H-2' / H-6', H-4''
7.52	t, 2H, ³ <i>J</i> = 7.6 Hz; H-3'' / H-5''
6.53	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-3' / H-5'
5.98	s, 2H; <u>NH</u> ₂ ⁺
5.91	t, 1H, ³ <i>J</i> = 5.0 Hz; <u>CH</u> =C
4.76	s, 2H; <u>CH</u> ₂ O-CO-Phenyl
4.12	d, 2H, ³ <i>J</i> = 6.2 Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.71 – 3.60	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C

3.41 – 3.35	m, 2H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C
3.08	dd, 1H, $^2J = 13.0$ Hz, $^3J = 10.0$ Hz; OCH ₂ -CH-CH ₂ -N
2.41	d, 1H, $^2J = 15.6$ Hz; CH-CH ₂ -C=CH
2.38 – 2.29	m, 1H; CH-CH ₂ -C=C

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 29.9°C, 125.77 MHz, APT):

δ _C (ppm) = 165.6	<u>C</u> O-Phenyl	
165.3	<u>C</u> OOCH ₂ -CH	
153.6	C-4'	
140.4	<u>C</u> =CH	
133.4	C-4''	
131.1	C-2' / C-6'	
129.4	C-1''	
129.1	C-2''' / C-6'''	
128.7	C-3''' / C-5'''	
122.3	C= <u>C</u> H	
115.4	C-1'	
112.6	C-3' / C-5'	
68.2	O <u>C</u> H ₂ -C=CH	
65.2	O <u>C</u> H ₂ -CH	
50.2	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C	*)
43.4	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
34.2	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂	
30.6	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂	

MS (ES+):

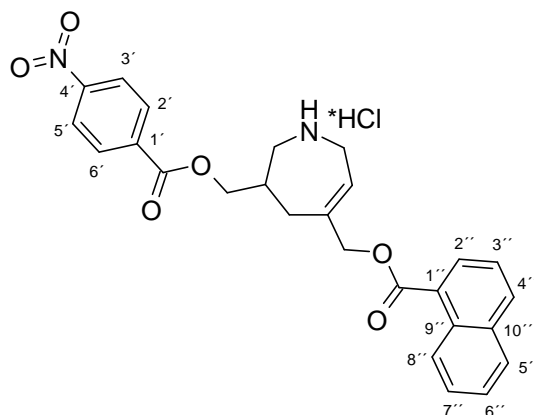
m/z (%) = 381 (100, [M+H]⁺), 761 (9, [2M+H]⁺)

HRMS (ES+):

m/z	calculated for C ₂₂ H ₂₅ N ₂ O ₄	: 381.181433
	found	: 381.184246

Melting point: 124°C

**5-(Naphthalene-1-carboxyloxymethyl)-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-
2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepine hydrochloride (62)**



According to the general procedure (method B), employment of **69** (0.129 g, 0.230 mmol, 1.0 equiv.) gave rise to 0.104 g (91%) of **62** as colorless solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 23.1°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 9.47	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
9.15	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
8.74	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.5 Hz; H-8''
8.20 – 8.14	m, 4H; H-3' / H-5', H-2'', H-4''
8.10	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-2' / 6'
8.01	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; H-5'
7.64	t, 1H, ³ <i>J</i> = 7.3 Hz; H-7''
7.61 – 7.55	m, 2H; H-3'' / H-6''
6.01	t, 1H, ³ <i>J</i> = 5.4 Hz; <u>CH</u> =C
4.92	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.1 Hz; <u>CH</u> ₂ -OCO-Naphthyl
4.87	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.3 Hz; <u>CH</u> ₂ -OCO-Naphthyl
4.36	dd, 1H, ² <i>J</i> = 11.0 Hz, ³ <i>J</i> = 6.0 Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.30	dd, 1H, ² <i>J</i> = 11.0 Hz, ³ <i>J</i> = 6.4 Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.86 – 3.71	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.56 – 3.48	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.31 – 3.20	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.66	dd, 1H, ² <i>J</i> = 15.6 Hz, ³ <i>J</i> = 11.0 Hz; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
2.56	d, 2H, ² <i>J</i> = 15.4 Hz; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 166.4	<u>C</u> O-Naphthyl
164.1	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
150.2	C-4'
141.6	<u>C</u> =CH
134.8	C-1'
133.7	C-4''
133.5	C-10''
130.6	C-2' / C-6'
130.5	C-9''
130.1	C-2''
128.8	C-5''
128.1	C-7''
126.5	C-6''
126.3	C-1''
125.1	C-8''
124.9	C-3''
123.7	C-3' / C-5'
121.6	C= <u>C</u> H
68.4	<u>C</u> H ₂ -OCO-Naphthyl
66.9	O <u>C</u> H ₂ -CH
49.7	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
42.9	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
33.5	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
30.5	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂

MS (ES+):

m/z (%) = 461 (100, $[M+H]^+$)

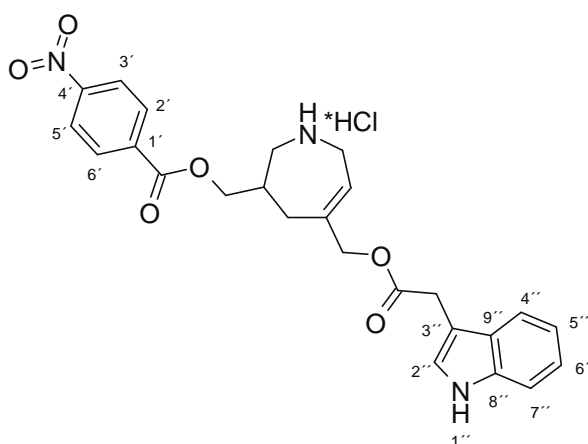
HRMS (ES+):

m/z	calculated for C ₂₆ H ₂₅ N ₂ O ₆	: 461.171262
	found	: 461.174019

EA:	$C_{26}H_{25}N_2O_6Cl \cdot H_2O$	(514.96 g/mol)
calcd.:	C: 60.64 H: 5.29 N: 5.44	
found:	C: 60.70 H: 5.47 N: 5.35	

Melting point: 115°C

5-(2-1*H*-Indol-3-yl-acetoxymethyl)-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepine hydrochloride (63**)**



According to the general procedure (method B), employment of **70** (0.105 g, 0.186 mmol, 1.0 equiv.) gave rise to 0.079 g (85%) of **63** as a yellow solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ_H (ppm) = 11.01	s, 1H; H-1''
9.58	bs, 1H; $NH_2^+Cl^-$
9.23	bs, 1H; $NH_2^+Cl^-$
8.32	d, 2H, $^3J = 8.5$ Hz; H-3'/5'
8.22	d, 2H, $^3J = 8.5$ Hz; H-2'/6'
7.47	d, 1H, $^3J = 7.8$ Hz; H-4''
7.33	d, 1H, $^3J = 8.0$ Hz; H-7''
7.25	s, 1H; H-2''
7.04	t, 1H, $^3J = 7.5$ Hz; H-5''
6.96	t, 1H, $^3J = 7.3$ Hz; H-6''
5.76	s, 1H; $CH=C$

4.55	s, 2H; $\underline{\text{CH}}_2\text{-OCO-CH}_2\text{-Indolyl}$
4.22	s, 2H; $\text{OCH}_2\text{-CH}$
3.78	s, 2H; $\text{OCO-CH}_2\text{-Indolyl}$
3.74 – 3.61	m, 2H; $\text{N-CH}_2\text{-C=CH}$
3.44	d, 1H, $^2J = 11.7 \text{ Hz}$; $\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$
3.24 – 3.14	m, 1H; $\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$
2.51 – 2.46	m, 1H; $\text{CH-CH}_2\text{-C=C}$
2.42 – 2.35	m, 1H; $\text{CH-CH}_2\text{-C=C}$
2.29	d, 1H, $^2J = 15.6 \text{ Hz}$; $\text{OCH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-N}$

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 171.1	$\underline{\text{C}}\text{OCH}_2\text{-Indolyl}$
164.0	$\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2\text{-CH}$
150.2	C-4'
141.4	$\underline{\text{C}}\text{=CH}$
136.0	C-1'
134.8	C-8''
130.7	C-2' / C-6'
126.9	C-9''
124.0	C-2''
123.7	C-3' / C-5'
121.0	$\text{C}=\underline{\text{CH}}$ C-5''
120.1	C-5''
118.4	C-4''
118.3	C-6''
111.4	C-7''
106.6	C-3''
67.1	$\underline{\text{CH}}_2\text{-OCO-CH}_2\text{-Indolyl}$
66.9	$\text{OCH}_2\text{-CH}$
49.3	$\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$ *)
42.5	$\text{N-CH}_2\text{-CH=C}$ *)
33.0	$\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2$
30.6	$\underline{\text{CH}}_2\text{-Indolyl}$
30.1	$\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2$

MS (ES⁺):

m/z (%) = 464 (100, [M+H]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₂₅ H ₂₆ N ₃ O ₆	: 464.182161
	found	: 464.185742

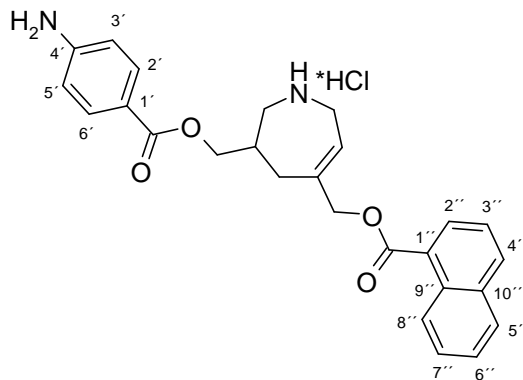
EA: C₂₅H₂₆N₃O₆Cl*1H₂O (517.97 g/mol)

calcd.: C: 57.97 H: 5.45 N: 8.11

found: C: 58.31 H: 5.28 N: 8.03

Melting point: 165°C

**3-(4-Amino-benzoyloxymethyl)-5-(naphthalene-1-carboxyloxymethyl)-
2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepine hydrochloride (64)**



Following the general procedure (method C), utilization of **69** (0.398 g, 0.71 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.242 g (73%) of **64** as a brownish solid after column chromatography (DCM/MeOH: 8:2).

¹H-NMR (MeOH-*d*₄, 19.9°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 8.84	d, 1H, ³ J = 8.7 Hz; H-8''
8.20	dd, 1H, ³ J = 7.2 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz; H-2''
8.10	d, 1H, ³ J = 8.3 Hz; H-4''
7.95	d, 1H, ³ J = 7.3 Hz; H-5''

7.69	dt, 2H, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz; H-2'/6'
7.60	ddd, 1H, $^3J = 7.9$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz; H-7''
7.55	ddd, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, $^3J = 7.3$ Hz, $^4J = 1.2$ Hz; H-3''
7.50	dd, 1H, $^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 0.7$ Hz; H-6''
6.53	dt, 2H, $^3J = 10.0$, $^4J = 1.8$ Hz; H-3'/5'
6.06	t, 1H, $^3J = 6.0$ Hz; <u>CH</u> =C
4.23	dd, 2H, $^3J = 6.4$, $^4J = 1.4$ Hz; <u>CH</u> ₂ -OCO-Naphthyl
3.84	dd, 1H, $^2J = 15.6$ Hz, $^3J = 6.2$ Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.78	dd, 1H, $^2J = 15.6$ Hz, $^3J = 5.7$ Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.58	dd, 1H, $^2J = 13.3$ Hz, $^3J = 9.6$ Hz; N-C <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.31	sm, 2H; N-C <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.23	dd, 1H, $^2J = 13.3$ Hz, $^3J = 10.3$ Hz; N-C <u>CH</u> ₂ -C=CH
2.64	d, 2H, $^3J = 6.0$ Hz; CH-C <u>CH</u> ₂ -C=C
2.57 – 2.44	m, 1H; OCH ₂ -C <u>H</u> -CH ₂ -N

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ _C (ppm) = 166.2	<u>C</u> O-Naphthyl
165.6	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
153.6	C-4'
140.7	<u>C</u> =CH
133.5	C-4''
133.4	C-10'
131.1	C-2'/C-6'
130.4	C-9'
129.9	C-2''
128.7	C-5''
127.9	C-7''
126.34	C-6''
126.33	C-1''
125.0, 124.8	C-3''/C-8''
122.3	C= <u>CH</u>
115.4	C-1'
112.6	C-3'/C-5'
68.4	<u>CH</u> ₂ -OCO-Naphthyl

65.2	$\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}$	
50.1	$\text{N-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$	*)
43.2	$\text{N-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH=C}$	*)
34.1	$\text{N-CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H-CH}_2$	
30.7	$\text{N-CH}_2\text{-CH-}\underline{\text{C}}\text{H}_2$	

MS (ES+):

m/z (%) = 431 (100, $[M+H]^+$), 861 (10, $[2M+H]^+$)

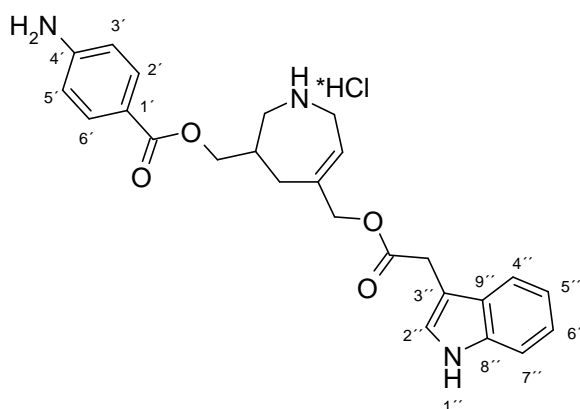
HRMS (ES+):

m/z	calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4$: 431.197083
	found	: 431.194869

EA:	$\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$	(475.98 g/mol)
	calcd.: C: 65,61 H: 5.93 N: 5.89	
	found: C: 65.82 H: 5.93 N: 5.76	

Melting point: 197°C

3-(4-Amino-benzoyloxymethyl)-5-(2-1*H*-indol-3-yl-acetoxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepine hydrochloride (65**)**



Following the general procedure (method C), utilization of **70** (0.099 g, 0.176 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.043 g (52%) of **65** as a brownish, hygroscopic solid after column chromatography (DCM/MeOH: 7:3).

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 30.0°C, 500.16 MHz):

δ_{H} (ppm) = 10.95	bs, 1H; N- <u>H</u>
8.48 – 8.15	bs, 2H; N <u>H</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
7.67	d, 2H, $^3J = 8.7$ Hz; H-2'/6'
7.48	d, 1H, $^3J = 7.8$ Hz; H-4''
7.35	d, 1H, $^3J = 8.3$ Hz; H-7''
7.24	d, 1H, $^4J = 2.3$ Hz; H-6''
7.06	t, 1H, $^3J = 6.9$ Hz; H-5''
6.97	dd, 1H, $^3J = 6.9$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz; H-2''
6.57	d, 2H, $^3J = 8.7$ Hz; H-3'/5'
5.99	s, 2H; N <u>H</u> ₂
5.76 – 5.71	m, 1H; C <u>H</u> =C
4.51	s, 2H; C <u>H</u> ₂ -OCO-CH ₂ -Indolyl
4.04	sm, 2H; OC <u>H</u> ₂ -CH
3.76	s, 2H; OCO-C <u>H</u> ₂ -Indolyl
3.58	t, 2H, $^3J = 6.4$ Hz; N-C <u>H</u> ₂ -C=CH
3.36 – 3.32	m, 1H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.05	dd, 1H, $^2J = 13.0$ Hz, $^3J = 10.2$ Hz; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.43 – 2.35	m, 1H; OCH ₂ -C <u>H</u> -CH ₂ -N
2.24	d, 2H, $^2J = 15.6$ Hz; CH-C <u>H</u> ₂ -C=C

 ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 34.9°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 171.0	<u>C</u> OCH ₂ -Indolyl
165.6	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
153.6	C-4'
140.6	<u>C</u> =CH
136.0	C-8''
131.1	C-2'/C-6'
126.9	C-9''
124.0	C-2''
121.5	C-5''
121.0	C= <u>C</u> H
118.4, 118.3	C-4'', C-6''
115.4	C-1'

112.6	C-3'/C-5'
111.3	C-7''
106.7	C-3''
67.4	<u>C</u> H ₂ -OCO-CH ₂ -Indolyl
65.1	O <u>C</u> H ₂ -CH
50.2	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
43.3	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
34.1	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
30.6	<u>C</u> H ₂ -Indolyl
30.4	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂

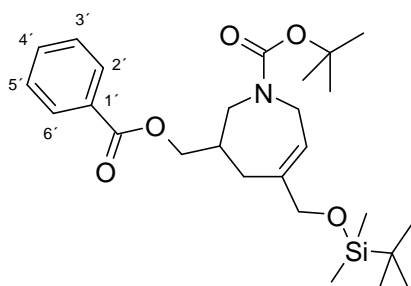
MS (ES⁺):

m/z (%) = 434 (100, [M+H]⁺), 867 (7, [2M+H]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₂₅ H ₂₈ N ₃ O ₄	: 434.207982
	found	: 434.210643

3-Benzoyloxymethyl-5-(*tert*-butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (66)



To a stirred solution of **21** (0.743 g, 2.0 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (20 mL) were added TEA (0.40 mL, 2.60 mmol, 1.3 equiv.) and a catalytic amount of DMAP followed by the dropwise addition of a solution of benzoyl chloride (0.3 mL, 2.20 mmol, 1.1 equiv. in DCM [2 mL]) at 0°C. The reaction mixture was allowed to reach room temperature and was stirred for 18 h at ambient temperature. After addition of *t*-BuOMe (50 mL) the solution was quenched with a

saturated NH_4Cl solution and the aqueous layer was extracted twice with *t*-BuOMe (50 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 9:1) of the remaining oily residue afforded 0.688 g (72%) of **66** as a colorless oil.

^1H -NMR (CDCl_3 , 22.5 °C, 500.16 MHz):

δ_{H} (ppm) = 8.02	dd, 2H, $^3J = 8.3$, $^4J = 1.2$ Hz; H-2' / H-6'
7.54	sm, 1H; H-4'
7.42	pst, 2H; H-3' / H-5'
5.73	s, 1H; $\text{CH}=\text{C}$
4.20	d, 2H, $^3J = 6.9$ Hz; O- CH_2 -CH
4.05 – 3.86	m, 2H; N- CH_2 -C=CH
3.97	s, 2H; O CH_2 -C=C
3.76 – 3.61	m, 1H; N- CH_2 -CH-CH ₂ -CH
3.44	dd, 1H, $^2J = 14.2$, $^3J = 7.8$ Hz; N- CH_2 -CH-CH ₂ -CH
2.45 – 2.30	bd, 1H; OCH ₂ - CH -CH ₂ -N
2.25	pst, 1H; CH- CH_2 -C=C
2.17 – 2.08	m, 1H; CH- CH_2 -C=C
1.42	s, 9H; N-COO-C(CH_3) ₃
0.87	s, 9H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(CH_3) ₃
0.02	s, 6H; O-Si((CH_3) ₂)-C(CH ₃) ₃

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 26.0 °C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ_{C} (ppm) = 166.3	COOCH_2	
155.4, 155.2	N- $\text{COO-C(CH}_3)_3$	
140.1, 139.2	$\text{C}=\text{CH}$	
132.95, 132.86	C-4'	
130.1	C-1'	
129.6	C-2' / C-6'	
128.3	C-3' / C-5'	
122.0, 121.9	C= CH	
79.7, 79.4	N-COO- $\text{C(CH}_3)_3$	
67.7, 67.3	$\text{CH}_2\text{-OTBDMS}$	*)
66.91, 66.85	O CH_2 -CH	*)

49.5, 49.4	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
46.2	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C	*)
37.0, 36.6	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂	
29.4, 29.0	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂	
28.4	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃	
25.9	O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>C</u> H ₃) ₃	
18.3	O-Si((CH ₃) ₂)- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
-5.46	O-Si(<u>C</u> H ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	
-5.43	O-Si(<u>C</u> H ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	

MS (ES+):

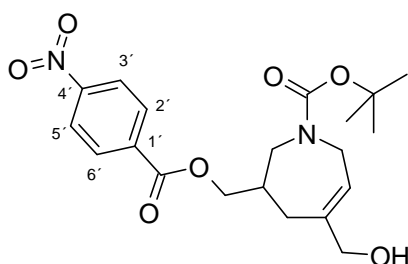
m/z (%) = 498 (77, [M+Na]⁺), 973 (100, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES+):

m/z	calculated for C ₂₆ H ₄₂ NO ₅ Si	: 476.283227
	found	: 476.284998

EA:	C ₂₆ H ₄₁ NO ₅ Si	(475.71 g/mol)
	calcd.: C: 65.65 H: 8.69 N: 2.94	
	found: C: 65.64 H: 8.75 N: 2.87	

Hydroymethyl-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (**67**)



Following the general procedure (method D), use of **52** (0.437 g, 0.84 mmol, 1.0 equiv.) rendered 0.263 g (77%) of **67** as a colorless oil after column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:1).

¹H-NMR (CDCl₃, 24.3 °C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 8.30	d, 2H, ³ J = 8.7 Hz; H-3' / H-5'
8.22	d, 2H, ³ J = 8.9 Hz; H-2' / H-6'
5.80	s, 1H; <u>C</u> H=C
4.30	d, 2H, ³ J = 6.6 Hz; O <u>C</u> H ₂ -CH
4.09 – 3.95	m, 2H; <u>C</u> H ₂ -OH
4.02	s, 2H; N- <u>C</u> H ₂ -C=CH
3.72 – 3.63	m, 1H; N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C
3.60 – 3.50	m, 1H; N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C
2.51 – 2.41	m, 1H; OCH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂ -N
2.38	d, 1H, ² J = 15.0 Hz; CH- <u>C</u> H ₂ -C=C
2.26	dd, 1H, ² J = 15.2, ³ J = 8.6 Hz; CH- <u>C</u> H ₂ -C=C
1.45	s, 9H; N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 27.0 °C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 164.4	<u>C</u> OOCH ₂
155.3, 155.2	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
150.5	<u>C</u> -4'
140.2, 139.7	<u>C</u> =CH
135.4, 135.3	C-1'
130.6, 130.5	C-2' / C-6'
123.4	C-3' / C-5'
123.2, 123.1	C= <u>C</u> H
79.9, 79.7	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
67.7	O <u>C</u> H ₂ -CH *)
67.5	<u>C</u> H ₂ -OH *)
49.3, 49.1	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
46.3, 46.0	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
36.9, 36.5	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
29.4, 29.2	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂
28.3	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

MS (ES⁺):

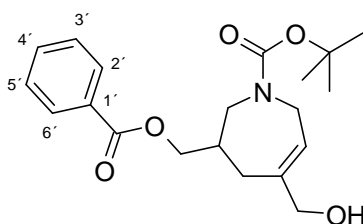
m/z (%) = 429 (100, [M+Na]⁺), 835 (80, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z calculated for C₂₀H₂₆N₂O₇Na : 429.163771
 found : 429.161823

EA: C₂₀H₂₆N₂O₇ (406.44 g/mol)
 calcd.: C: 59.10 H: 6.45 N: 6.89
 found: C: 59.04 H: 6.56 N: 6.82

3-Benzoyloxymethyl-5-hydroxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (68)



Following the general procedure (method D), use of **66** (0.618 g, 1.30 mmol, 1.0 equiv.) rendered 0.423 g (90%) of **68** as a colorless oil after column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:1).

¹H-NMR (CDCl₃, 24.0°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 8.04	dd, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3, ² <i>J</i> = 1.0 Hz; H-2'/6'
7.57	t, 1H, ³ <i>J</i> = 7.1 Hz; H-4'
7.44	t, 2H, ³ <i>J</i> = 7.6 Hz; H-3'/H-5'
5.78	bs, 1H; <u>CH</u> =C
4.24	d, 2H, ³ <i>J</i> = 6.2 Hz; O- <u>CH</u> ₂ -CH
4.08 – 3.94	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
4.01	s, 2H; HO- <u>CH</u> ₂ -C=C
3.77 – 3.63	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH
3.49	sm, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH

2.51 – 2.39	m, 1H; OCH ₂ -C <u>H</u> -CH ₂ -N
2.36	dd, 1H, ² J = 15.3, ³ J = 2.8 Hz; CH-C <u>H</u> ₂ -C=C
2.26	sm, 1H; CH-C <u>H</u> ₂ -C=C
1.45	s, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 26.9°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 166.4	<u>C</u> OOCH ₂	
155.3	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃	
140.4, 140.0	<u>C</u> =CH	
133.0, 132.9	<u>C</u> -4'	
129.9	C-1'	
129.4	C-2' / C-6'	
128.3	C-3' / C-5'	
123.0, 122.8	C= <u>C</u> H	
79.9, 79.8	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
67.7, 67.5	HO- <u>C</u> H ₂ -C=C	*)
66.8, 66.6	O <u>C</u> H ₂ -CH	*)
49.5, 49.3	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
46.2, 46.1	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C	*)
37.0, 36.5	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂	
29.4	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂	
28.3	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃	

MS (ES⁺):

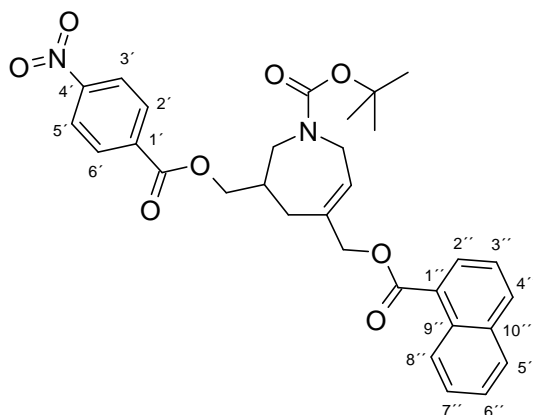
m/z (%) = 384 (25, [M+Na]⁺), 745 (100, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₂₀ H ₂₇ NO ₅ Na	: 384.178693
	found	: 384.176482

EA:	C ₂₀ H ₂₇ NO ₅	(361.44 g/mol)
	calcd.: C: 66.46	H: 7.53 N: 3.88
	found: C: 66.69	H: 7.56 N: 4.06

**5-(Naphthalene-1-carboxyloxymethyl)-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-
2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (69)**



Compound **69** was prepared according to general procedure (method A). Reaction of **67** (1.016 g, 2.50 mmol, 1.0 equiv.) with 1-naphthoic acid (0.517 g, 3.00 mmol, 1.2 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 3:1) afforded 0.620 g (44%) of **69** as a yellow solid.

¹H-NMR (CDCl₃, 20.6°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 8.84	t, 1H, ³ <i>J</i> = 7.5 Hz; H-8''
8.17 – 8.12	m, 1H; H-2''
8.02 – 7.92	m, 5H; H-3' / 5', H-2' / 6', H-4''
7.83	dd, 1H, ³ <i>J</i> = 8.2, ³ <i>J</i> = 7.8 Hz; H-5''
7.57	sm, 1H; H-7''
7.51	sm, 1H; H-6''
7.44	sm, 1H; H-3''
6.02 – 5.96	bd, 1H; <u>CH</u> =C
4.83	psquint, 2H, ² <i>J</i> = 12.3 Hz; <u>CH</u> ₂ -OCO-Naphthyl
4.37	psquint, 1H, ³ <i>J</i> = 5.3 Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.27 – 4.19	m, 1H; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.18 – 4.05	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
4.03	d, 1H, ³ <i>J</i> = 3.0 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.70	sm, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.50	sm, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.60 – 2.50	m, 2H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C

2.45 – 2.36	m, 1H; OCH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂ -N
1.48	s, 9H; N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 23.6°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 166.9	<u>C</u> O-Naphthyl
164.2	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
155.4, 155.1	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
150.1	C-4'
135.7, 135.0	<u>C</u> =CH
134.8, 134.7	C-1'
133.7	C-10''
133.5	C-4''
131.2	C-9''
130.3, 130.2	C-2' / C-6'
130.1	C-2''
128.4	C-5''
127.9	C-7''
127.8	C-3' / C-5'
126.5	C-1''
126.2	C-6''
125.5	C-8''
124.4	C-3''
123.2	C= <u>C</u> H
80.1, 79.9	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
69.7	O <u>C</u> H ₂ -CH
67.2, 67.1	<u>C</u> H ₂ -OCO-Naphthyl
49.0	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
46.5	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
37.0, 36.7	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
29.7, 29.2	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂
28.4	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

MS (ES+):

m/z (%) = 583 (100, [M+Na]⁺), 1143 (40, [2M+Na]⁺)

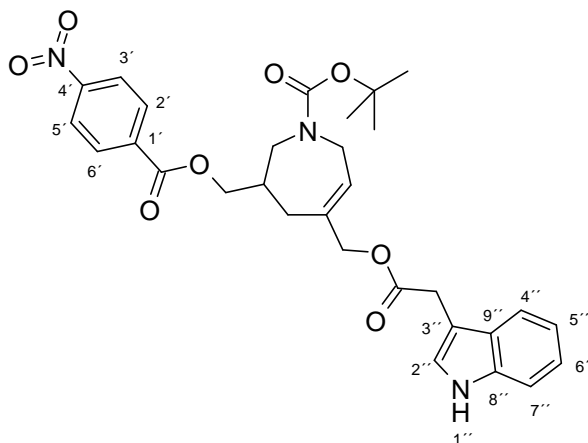
HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₃₁ H ₃₂ N ₂ O ₈ Na	: 583.205636
	found	: 583.208517

EA:	C ₃₁ H ₃₂ N ₂ O ₈	(560.61 g/mol)
	calcd.: C: 66.42	H: 5.75 N: 5.00
	found: C: 66.13	H: 5.89 N: 4.83

Melting point: 117°C

5-(2-1*H*-Indol-3-yl-acetoxymethyl)-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (70**)**



Compound **70** was prepared according to general procedure (method A). Reaction of **67** (0.691 g, 1.70 mmol, 1.0 equiv.) with 3-indole acetic acid (0.357 g, 2.04 mmol, 1.2 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 3:2) afforded 0.805 g (84%) of **70** as a yellow, hygroscopic solid:

¹H-NMR (CDCl₃, 20.6°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 8.22	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3'/5'
8.20	bs, 1H; H-1''
8.15	d, 2H, ³ <i>J</i> = 7.3 Hz; H-2'/6'
7.57	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; H-4''
7.34 – 7.29	m, 1H; H-7''

7.17 – 7.13	m, 2H; H-5''/ H-6''
7.09	dt, 1H, $^3J = 7.3$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz; H-2''
5.80 – 5.75	m, 1H; <u>CH</u> =C
4.51	s, 2H; <u>CH</u> ₂ -OCO-CH ₂ -Indolyl
4.20 – 4.04	m, 2H; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.04 – 3.85	m, 2H; <u>CH</u> ₂ -Indolyl
3.78	s, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.66 – 3.53	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.49 – 3.38	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.32 – 2.19	m, 2H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
2.19 – 2.10	m, 1H; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
1.44	s, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 25.1°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 171.7	<u>C</u> OCH ₂ -Indolyl
164.5	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
155.4, 155.1	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
150.5, 150.4	C-4'
136.0	C-8''
135.5, 135.2	C-1'
134.5	<u>C</u> =CH
130.6	C-2'/ C-6'
127.5, 127.2	C-3'/ C-5'
127.0	C-9''
123.5	C= <u>CH</u>
123.1	C-2''
122.1	C-5''
119.5	C-6''
118.6	C-4''
111.2	C-3''
108.1	C-7''
80.1, 79.9	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
69.3	<u>CH</u> ₂ -OCO-CH ₂ -Indolyl
67.4	O <u>CH</u> ₂ -CH

49.0	N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
46.2	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	*)
36.7, 36.3	N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂	
31.3	<u>CH</u> ₂ -Indolyl	
29.7, 29.1	N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂	
28.4	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃	

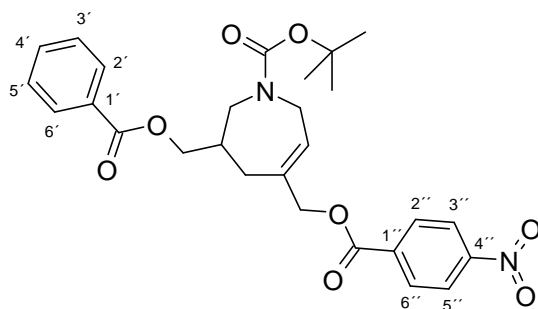
MS (ES+):

m/z (%) = 586 (100, [M+Na]⁺), 1149 (35, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES+):

m/z calculated for C₃₀H₃₃N₃O₈Na : 586.216535
 found : 586.213797

3-Benzoyloxymethyl-5-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (71)



Compound **71** was prepared according to general procedure (method A). Reaction of **68** (0.405 g, 1.12 mmol, 1.0 equiv.) with *p*-nitrobenzoic acid (0.224 g, 1.34 mmol, 1.2 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:1) afforded 0.371 g (65%) of **71** as a yellow oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 22.6°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 8.20	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-3''/ H-5''
8.15	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.9 Hz; H-2''/ H-6''
7.98	d, 2H, ³ <i>J</i> = 7.6 Hz; H-2'/ H-6'

7.54	dd, 1H, $^3J = 7.3$, $^3J = 6.9$ Hz; H-4'
7.40	t, 2H, $^3J = 7.6$ Hz; H-3'/ H-5'
5.97 – 5.87	m, 1H; <u>C</u> H=C
4.80	d, 1H, $^2J = 12.6$ Hz; <u>C</u> H ₂ O-CO- <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl
4.74	d, 1H, $^2J = 12.4$ Hz; <u>C</u> H ₂ O-CO- <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl
4.35 – 4.27	m, 1H; O <u>C</u> H ₂ -CH
4.21	dd, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $^3J = 7.1$ Hz; O <u>C</u> H ₂ -CH
4.14 – 3.97	m, 2H; N- <u>C</u> H ₂ -C=CH
3.78 – 3.66	m, 1H; N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C
3.50	dd, 1H, $^2J = 14.2$ Hz, $^3J = 8.0$ Hz; N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C
2.52 – 2.44	m, 2H; CH- <u>C</u> H ₂ -C=C
2.39 – 2.30	m, 1H; OCH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂ -N
1.43	s, 9H; N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 24.1°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 166.1	<u>C</u> O-Phenyl	
164.2	<u>C</u> O- <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl	
155.2, 155.1	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃	
150.4	C-4''	
135.1, 135.0	<u>C</u> =CH	
134.2	C-1''	
133.0	C-4'	
130.5	C-2''/ C-6''	
129.7	C-1'	
129.3	C-2'/ C-6'	
128.2	C-3'/ C-5'	
128.1	C= <u>C</u> H	
123.4	C-3''/ C-5''	
80.0, 79.7	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
70.4	CH=C- <u>C</u> H ₂ -OCO	
66.5, 66.3	O <u>C</u> H ₂ -CH	
49.2, 49.0	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
46.2	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C	*)
37.1, 36.7	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂	

29.7, 29.5	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂
28.3	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

MS (ES⁺):

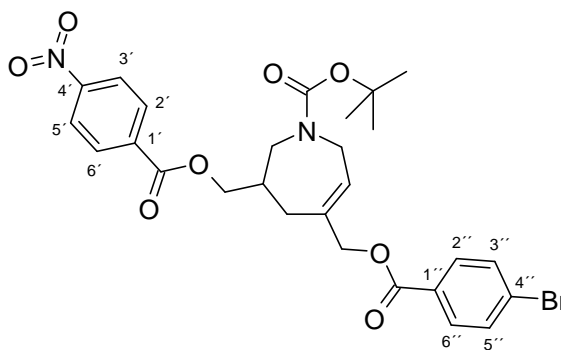
m/z (%) = 533 (78, [M+Na]⁺), 1043 (100, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₂₇ H ₃₀ N ₂ O ₈ Na	: 533.189986
	found	: 533.191940

EA:	C ₂₇ H ₃₀ N ₂ O ₈	(510.55 g/mol)
	calcd.: C: 63.52 H: 5.92 N: 5.49	
	found: C: 63.34 H: 5.99 N: 5.50	

5-(4-Bromo-benzoyloxymethyl)-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (72)



Compound **72** was prepared according to general procedure (method A). Reaction of **67** (1.016 g, 2.5 mmol, 1.0 equiv.) with 4-bromobenzoic acid (0.603 g, 3.0 mmol, 1.2 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 2:1) afforded 0.860 g (58%) of **72** as a yellow oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 23.3°C, 500.16 MHz, rotamers):

δ _H (ppm) = 8.24	d, 2H, ³ J = 8.0 Hz; H-3' / H-5'
8.14	dd, 2H, ³ J = 9.6 Hz, ³ J = 8.7 Hz; H-2' / H-6'
7.85	d, 2H, ³ J = 7.8 Hz; H-2'' / H-6''

7.56 – 7.50	m, 2H; H-3''/ H-5''
5.93 – 5.90	m, 1H; <u>CH</u> =C
4.77 – 4.66	m, 2H; CH=C- <u>CH</u> ₂ -OCO
4.39 – 4.32	m, 1H; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.29 – 4.21	m, 1H; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.15 – 3.95	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.74 – 3.64	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.59 – 3.46	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.57 – 2.41	m, 2H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
2.33	dd, 1H, ² J = 15.4 Hz, ³ J = 8.5 Hz; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
1.46	s, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 25.5°C, 125.77 MHz, APT):

δ _C (ppm) = 165.5	C-CH ₂ -O <u>C</u> O
164.4	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
155.4, 155.1	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
150.5	C-4'
135.3, 135.2	<u>C</u> =CH
134.3	C-1'
131.7	C-2''/ C-6''
131.0	C-3''/ C-5''
130.6, 130.5	C-2'/ C-6'
128.7	C-1''
128.2	C-4''
127.8, 127.7	C-3'/ C-5'
123.4	C= <u>CH</u>
80.1, 79.9	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
69.8	CH=C- <u>CH</u> ₂ -OCO
67.4	O <u>CH</u> ₂ -CH
49.1, 49.0	N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C *)
46.4	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C *)
37.0, 36.7	N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂
29.8, 29.3	N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂
28.4	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

MS (ES⁺):

m/z (%) = 613 [Br⁸¹](100, [M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z calculated for C₂₇H₂₉N₂O₈BrNa: 611.100497

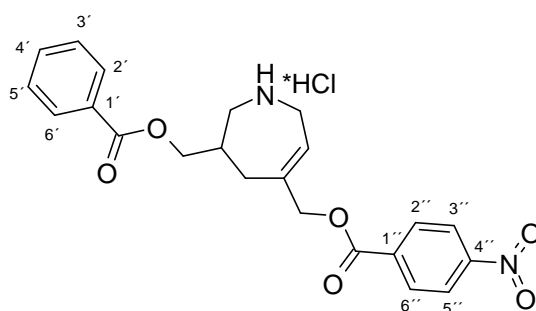
found : 611.103088

EA: C₂₇H₂₉BrN₂O₈ (589.44 g/mol)

calcd.: C: 55.02 H: 4.96 N: 4.75

found: C: 54.69 H: 5.01 N: 4.78

3-Benzoyloxymethyl-5-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepine hydrochloride (73)



According to the general procedure (method B), employment of **71** (0.123 g, 0.240 mmol, 1.0 equiv.) yielded 0.094 g (88%) of **73** as colorless powder.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 22.2°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 9.44	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
9.13	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
8.31	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-3''/ H-5''
8.19	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-2''/ H-6''
7.97	d, 2H, ³ <i>J</i> = 7.3 Hz; H-2'/ H-6'
7.65	t, 1H, ³ <i>J</i> = 7.3 Hz; H-4'
7.50	t, 2H, ³ <i>J</i> = 7.7 Hz; H-3'/ H-5'
5.97	t, 1H, ³ <i>J</i> = 5.4 Hz; <u>CH</u> =C

4.87	d, 1H, $^2J = 14.7$ Hz; $\text{CH}_2\text{O-CO-}p\text{-NO}_2\text{-Phenyl}$
4.84	d, 1H, $^2J = 14.0$ Hz; $\text{CH}_2\text{O-CO-}p\text{-NO}_2\text{-Phenyl}$
4.27	d, 2H, $^3J = 6.0$ Hz; $\text{OCH}_2\text{-CH}$
3.85 – 3.69	m, 2H; $\text{N-CH}_2\text{-C=CH}$
3.50	d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz; $\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$
3.29 – 3.18	m, 1H; $\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$
2.62	dd, 1H, $^2J = 15.6$, $^3J = 10.6$ Hz; $\text{OCH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-N}$
2.50 – 2.41	m, 2H; $\text{CH-CH}_2\text{-C=C}$

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 165.4	CO-Phenyl
163.7	$\text{CO-}p\text{-NO}_2\text{-Phenyl}$
150.2	C-4''
140.8	C=CH
134.7	C-1''
133.3	C-4'
130.5	C-2''/ C-6''
129.3	C-1'
129.0	C-2'/ C-6'
128.6	C-3'/ C-5'
123.7	C-3''/ C-5''
121.4	C=CH
68.7	$\text{CH=C-CH}_2\text{-OCO}$
66.0	$\text{OCH}_2\text{-CH}$
49.4	$\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C}$ *)
42.6	$\text{N-CH}_2\text{-CH=C}$ *)
33.3	$\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2$
30.3	$\text{N-CH}_2\text{-CH-CH}_2$

MS (ES+):

m/z (%) = 411 (100, $[M+H]^+$)

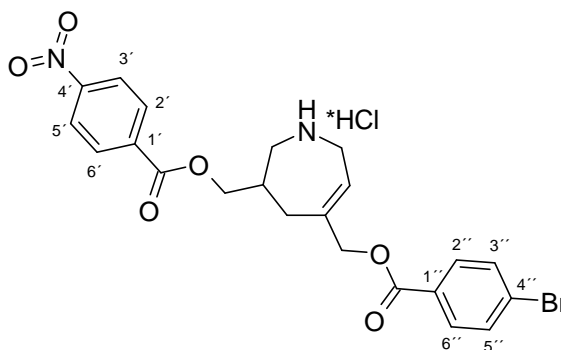
HRMS (ES+):

m/z	calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6$: 411.155612
	found	: 411.153340

EA:	$C_{22}H_{23}N_2O_6Cl \cdot 0.5H_2O$	(455.89 g/mol)
	calcd.: C: 57.96 H: 5.13 N: 6.41	
	found: C: 58.18 H: 5.41 N: 5.71	

Melting point: 206°C

5-(4-Bromo-benzoyloxymethyl)-3-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepine hydrochloride (74)



According to the general procedure (method B), employment of **72** (0.071 g, 0.120 mmol, 1.0 equiv.) gave rise to 0.059 g (94%) of **74** as a colorless solid.

¹H-NMR (MeOH-*d*₄, 23.1°C, 500.16 MHz):

δ_H (ppm) = 8.27	d, 2H, $^3J = 8.9$ Hz; H-3' / H-5'
8.19	d, 2H, $^3J = 8.9$ Hz; H-2' / H-6'
7.89	d, 2H, $^3J = 8.7$ Hz; H-2'' / H-6''
7.60	d, 2H, $^3J = 8.7$ Hz; H-3'' / H-5''
6.04	t, 1H, $^3J = 5.7$ Hz; <u>CH</u> =C
4.88	d, 1H, $^2J = 13.5$ Hz; CH=C- <u>CH</u> ₂ -OCO
4.82	d, 1H, $^2J = 13.1$ Hz; CH=C- <u>CH</u> ₂ -OCO
4.40	dd, 1H, $^2J = 11.2$, $^3J = 6.2$ Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.36	dd, 1H, $^2J = 11.2$, $^3J = 6.4$ Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.89	ddd, 2H, $^2J = 18.4$ Hz, $^3J = 11.2$ Hz, $^3J = 5.9$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.68	dd, 1H, $^2J = 13.2$ Hz, $^3J = 3.4$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.36	dd, 1H, $^2J = 13.1$ Hz, $^3J = 10.5$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.71 – 2.61	m, 2H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
2.60 – 2.51	m, 1H; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 164.8	C-CH ₂ -O <u>C</u> O
164.2	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
150.4	C-4'
141.3	<u>C</u> =CH
134.9	C-1'
132.0	C-2''/ C-6''
131.2	C-3''/ C-5''
130.8	C-2'/ C-6'
128.7	C-1''
127.7	C-4''
123.8	C-3'/ C-5'
121.3	C= <u>C</u> H
68.4	CH=C- <u>C</u> H ₂ -OCO
67.0	O <u>C</u> H ₂ -CH
49.6	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
42.8	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
33.4	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
30.4	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂

MS (ES⁺):

m/z (%) = 489 (100, $[M+H]^+$)

HRMS (ES⁺):

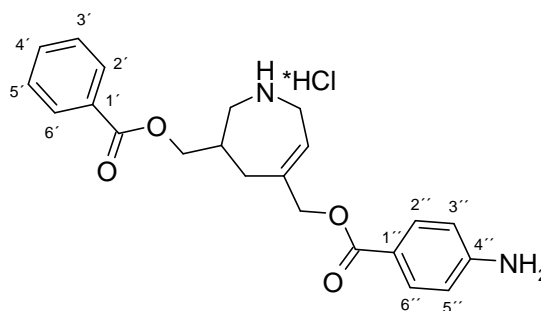
m/z	calculated for C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₆ Br ⁷⁹ : 489.066123
	found : 489.065860

EA: C₂₂H₂₂BrClN₂O₆ (525.78 g/mol)

calcd.:	C: 50.26	H: 4.22	N: 5.33
found:	C: 50.21	H: 4.53	N: 5.22

Melting point: 194°C

3-(4-Amino-benzoyloxymethyl)-3-benzoyloxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepine hydrochloride (75)



Following the general procedure (method C), utilization of **71** (0.173 g, 0.339 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.099 g (70%) of **75** as a brownish solid after column chromatography (DCM/MeOH: 93:7).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ_{H} (ppm) = 7.97	dd, 2H, $^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.2$ Hz; H-2'/ H-6'
7.65	m, 3H; H-2''/ H-6'', H-4'
7.50	t, 2H, $^3J = 7.6$ Hz; H-3'/ H-5'
6.56	d, 2H, $^3J = 8.7$ Hz; H-3''/ H-5''
6.00	s, 2H; <u>NH</u> ₂
5.87	t, 1H, $^3J = 5.4$ Hz; <u>CH</u> =C
4.64	s, 2H; <u>CH</u> ₂ O-CO- <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl
4.24	d, 2H, $^3J = 6.2$ Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.65	dd, 1H, $^2J = 16.0$ Hz, $^3J = 5.7$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.59	dd, 1H, $^2J = 15.8$ Hz, $^3J = 5.5$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.38	dd, 1H, $^2J = 13.1$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.11	dd, 1H, $^2J = 12.9$ Hz, $^3J = 9.8$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.50 – 2.47	m, 1H; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
2.44 – 2.34	m, 2H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 165.5	<u>CO</u> -Phenyl
164.4	<u>CO</u> - <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl
153.6	C-4''

140.6	<u>C</u> =CH
133.3	C-4'
131.1	C-2''/ C-6''
129.5	C-1'
129.1	C-2'/ C-6'
128.7	C-3'/ C-5'
122.4	C= <u>C</u> H
115.4	C-1''
112.6	C-3''/ C-5''
67.1	CH=C- <u>C</u> H ₂ -OCO
66.3	O <u>C</u> H ₂ -CH
50.5	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
43.9	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
34.4	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
30.5	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂

MS (ES+):

m/z (%) = 381 (100, [M+H]⁺), 761 (10, [2M+H]⁺)

HRMS (ES+):

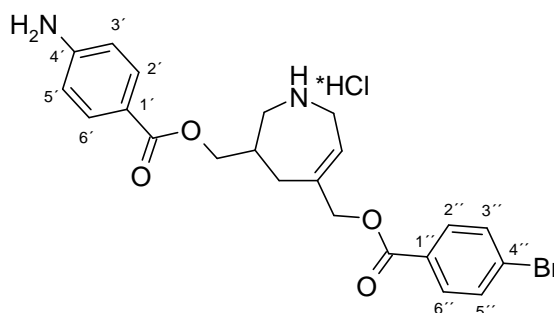
m/z	calculated for C ₂₂ H ₂₅ N ₂ O ₄	: 381.181433
	found	: 381.178897

EA: C₂₂H₂₅N₂O₄Cl*1H₂O (471.37 g/mol)

calcd.:	C: 60.76	H: 6.25	N: 6.44
found:	C: 60.31	H: 6.32	N: 6.07

Melting point: 81°C

3-(4-Amino-benzoyloxymethyl)-5-(4-bromo-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepine hydrochloride (76**)**



Following the general procedure (method C), utilization of **72** (0.212 g, 0.36 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.084 g (47%) of **76** as a brownish solid after column chromatography (DCM/MeOH: 7:3).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ_{H} (ppm) = 9.61	bs, 1H; NH_2^+Cl^-
9.24	bs, 1H; NH_2^+Cl^-
7.90	d, 2H, $^3J = 8.0$ Hz; H-2''/ H-6''
7.73	d, 2H, $^3J = 8.0$ Hz; H-2'/ H-6'
7.68	d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz; H-3''/ H-5''
6.64	d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz; H-3'/ H-5'
5.91	s, 1H; $\text{CH}=\text{C}$
4.78	s, 2H; $\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{OCO}$
4.19 – 4.12	m, 2H; OCH_2-CH
3.82 – 3.66	m, 2H; $\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{CH}$
3.44	d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz; $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}$
3.23 – 3.12	m, 1H; $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}$
2.60 – 2.53	m, 1H; $\text{OCH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}$
2.43	d, 2H, $^2J = 14.9$ Hz; $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}$

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 165.4	$\text{C}-\text{CH}_2-\text{OCO}$
164.5	COOCH_2-CH
151.4	C-4'

141.2	<u>C</u> =CH	
131.8	C-2''/ C-6''	
131.00	C-3''/ C-5''	
130.97	C-2'/ C-6'	
128.5	C-1''	
127.4	C-4''	
120.8	C= <u>C</u> H	
116.9	C-1'	
113.9	C-3'/ C-5'	
68.1	CH=C- <u>C</u> H ₂ -OCO	
65.1	O <u>C</u> H ₂ -CH	
49.5	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C	*)
42.5	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
33.4	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂	
30.4	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂	

MS (ES+):

m/z (%) = 459 [Br⁷⁹](100, [M+H]⁺)

HRMS (ES+):

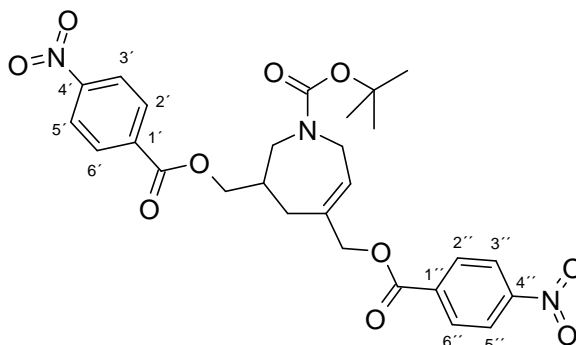
m/z	calculated for C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₄ Br	: 459.091944
	found	: 459.091967

EA: C₂₂H₂₄N₂O₄BrCl*4H₂O (475.98 g/mol)

calcd.:	C: 46.53	H: 5.68	N: 4.93
found:	C: 46.75	H: 5.11	N: 4.87

Melting point: 122°C

3,5-Bis(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (77)



Compound **77** was prepared according to general procedure (method A). Reaction of **51** (0.295 g, 1.2 mmol, 1.0 equiv.) with *p*-nitrobenzoic acid (0.485 g, 2.90 mmol, 2.4 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:1) afforded 0.461 g (69%) of **77** as a colorless solid.

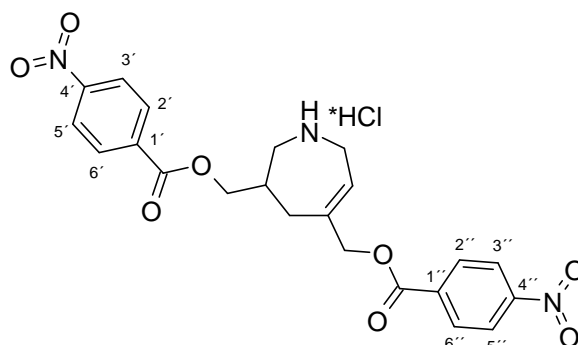
¹H-NMR (CDCl₃, 23.4°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ_{H} (ppm) = 8.26	d, 4H, $^3J = 7.6$ Hz; H-3'/H-5', H-3''/H-5''
8.21 – 8.14	m, 4H; H-2'/H-6', H-2''/H-6''
5.99 – 5.90	bd, 1H; $\text{CH}=\text{C}$
4.80	d, 1H, $^2J = 12.6$ Hz; $\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{OCO}$
4.75	d, 1H, $^2J = 12.6$ Hz; $\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{OCO}$
4.40 – 4.26	m, 2H; OCH_2-CH
4.16 – 3.96	m, 2H; $\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{CH}$
3.75 – 3.66	m, 1H; $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}$
3.63 – 3.48	m, 1H; $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}$
2.60 – 2.41	m, 2H; $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}$
2.33	dd, 1H, $^3J = 15.5$, $^3J = 8.5$ Hz; $\text{OCH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}$
1.46	s, 9H; $\text{N}-\text{COO}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$

¹³C-NMR (CDCl₃, 23.7°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) = 164.4	$\text{C}-\text{CH}_2-\text{OCO}$
164.3	COOCH_2-CH
155.3, 155.0	$\text{N}-\text{COO}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$

**3,5-Bis-(4-nitro-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepine
hydrochloride (78)**



According to the general procedure (method B), employment of **77** (0.117 g, 0.210 mmol, 1.0 equiv.) gave rise to 0.099 g (96%) of **78** as a colorless solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 9.57	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
9.23	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
8.29	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-3' / H-5'
8.28	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-3'' / H-5''
8.19	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.9 Hz; H-2'' / H-6''
8.18	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-2' / H-6'
5.97	t, 1H, ³ <i>J</i> = 5.5 Hz; <u>CH</u> =C
4.87	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.3 Hz; CH=C- <u>CH</u> ₂ -OCO
4.82	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.3 Hz; CH=C- <u>CH</u> ₂ -OCO
4.35	d, 1H, ² <i>J</i> = 12.8 Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
4.31	d, 1H, ² <i>J</i> = 12.6 Hz; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.80	dd, 1H, ² <i>J</i> = 15.2 Hz, ³ <i>J</i> = 5.6 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.74	dd, 1H, ² <i>J</i> = 15.2 Hz, ³ <i>J</i> = 5.6 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.50	d, 1H, ³ <i>J</i> = 10.5 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.29 – 3.22	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
2.63	dd, 1H, ² <i>J</i> = 15.8 Hz, ³ <i>J</i> = 10.2 Hz; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
2.57 – 2.53	m, 2H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ_{C} (ppm) =	164.0	C-CH ₂ -O <u>C</u> O
	163.8	<u>C</u> OOCH ₂ -CH
	150.19, 150.18	C-4' / C-4''
	140.9	<u>C</u> =CH
	134.8, 134.7	C-1' / C-1''
	130.63, 130.59	C-2' / C-6', C-2'' / C-6''
	123.8, 123.7	C-3' / C-5', C-3'' / C-5''
	121.5	C= <u>C</u> H
	68.7	CH=C- <u>C</u> H ₂ -OCO
	66.8	O <u>C</u> H ₂ -CH
	49.4	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
	42.6	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
	33.3	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
	30.2	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂

MS (ES+):

m/z (%) = 456 (100, $[M+H]^+$)

HRMS (ES+):

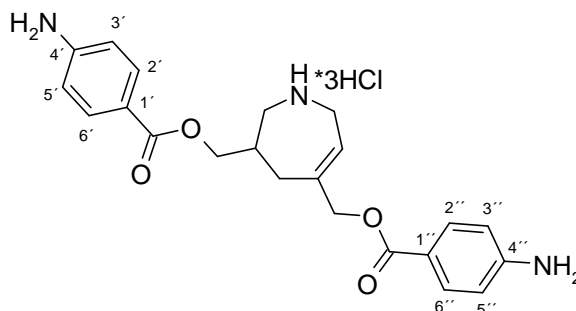
m/z	calculated for C ₂₂ H ₂₂ N ₃ O ₄	: 456.140690
	found	: 456.143014

EA: C₂₂H₂₂N₃O₈Cl*1H₂O (511.58 g/mol)

calcd.:	C: 51.82	H: 4.74	N: 8.24
found:	C: 51.70	H: 4.72	N: 8.14

Melting point: 104°C

3,5-Bis-(4-amino-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepine tri-hydrochloride (79**)**



Following the general procedure (method C), utilization of **77** (0.230g, 0.4 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.119 g (59%) of **79** as a brownish solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ _H (ppm) = 9.67	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
9.27	bs, 1H; <u>NH</u> ₂ ⁺ Cl ⁻
7.74	bs, 4H; H-2' / H-6', H-2'' / H-6''
7.40 – 6.90	bs, 6H; <u>NH</u> ₃ ⁺ Cl ⁻ , <u>NH</u> ₃ ⁺ Cl ⁻
6.81	bs, 4H; H-3' / H-5', H-3'' / H-5''
5.86	s, 1H; <u>CH</u> =C
4.68	s, 2H; CH=C- <u>CH</u> ₂ -OCO
4.15	s, 2H; O <u>CH</u> ₂ -CH
3.82 – 3.60	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
3.41	bs, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.16	bs, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C
3.03	s, 1H; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
2.40 – 2.32	m, 2H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 125.77 MHz, APT):

δ _C (ppm) = 165.3	C-CH ₂ - <u>CO</u>
165.0	<u>COO</u> CH ₂ -CH
149.5	C-4' / C-4''
141.8	<u>C</u> =CH
130.9	C-2' / C-6', C-2'' / C-6''

119.9	C= <u>C</u> H
118.3	C-1' / C-1''
115.3	C-3' / C-5', C-3'' / C-5''
66.9	CH=C- <u>C</u> H ₂ -OCO
65.3	O <u>C</u> H ₂ -CH
49.5	N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C *)
42.5	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
33.3	N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂
30.4	N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂

MS (ES+):

m/z (%) = 396 (100, $[M+H]^+$), 791 (14, $[2M+H]^+$)

HRMS (ES+):

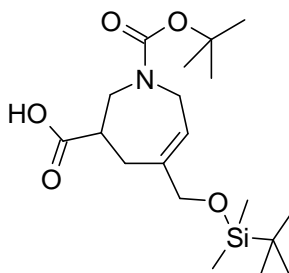
m/z	calculated for C ₂₂ H ₂₆ N ₃ O ₄	: 396.192332
	found	: 396.195761

EA: C₂₂H₂₈N₃O₄Cl₃*2H₂O (544.84 g/mol)

calcd.:	C: 48.85	H: 5.96	N: 7.77
found:	C: 48.43	H: 5.84	N: 7.63

Melting point: > 250°C

5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1,3-dicarboxylic acid 1-*tert*-butyl ester (90)



LiOH (0.525 g, 12.50 mmol, 2.5 equiv.) was added to a stirred solution of **125** (2.370 g, 5.0 mmol, 1.0 equiv.) in a 3:1 mixture (75 mL) of THF and water at 0°C. After the dropwise addition of H₂O₂ 30% (9.9 mL, 10.0 mmol, 2.0 equiv.) the reaction mixture was stirred maintaining the temperature at 0°C until TLC indicated the completion of the reaction (2 h), and was then concentrated under reduced pressure. The residual slurry was re-dissolved in a small amount of H₂O until basic reaction, and the aqueous layer was extracted twice with *t*-BuOMe. After addition of DCM to the aqueous layer giving rise to an emulsion, citrate buffer was added dropwise until pH 4 was reached. The layers were separated, and the aqueous layer was extracted three times with *t*-BuOMe. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, concentrated under reduced pressure, and afforded 1.740 g (91%) of **90** as a colorless oil.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 21.5°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) =	12.41	bs, 1H; COOH <u>H</u>
	5.68	bs, 0.5H; C <u>H</u> =C
	5.56	bs, 0.5H; C <u>H</u> =C
	3.97	bs, 2H; C <u>H</u> ₂ -OTBDMS
	3.96 – 3.90	m, 1H; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
	3.88 – 3.78	m, 1H; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
	3.76 – 3.63	m, 1H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
	3.53	dd, 0.5H, ² <i>J</i> = 14.3 Hz, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
	3.40	dd, 0.5H, ² <i>J</i> = 13.5 Hz, ³ <i>J</i> = 9.2 Hz; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
	2.74	m, 0.5H; CO-C <u>H</u> -CH ₂
	2.67	m, 0.5H; CO-C <u>H</u> -CH ₂
	2.30 – 2.14	m, 2H; N-CH ₂ -CH-C <u>H</u> ₂ -C=CH
	1.38	bs, 4.5H; N-COO-C(C <u>H</u> ₃) ₃
	1.37	bs, 4.5H; N-COO-C(C <u>H</u> ₃) ₃
	0.87	s, 9H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(C <u>H</u> ₃) ₃
	0.032	bs, 3H; O-Si((C <u>H</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃
	0.026	bs, 3H; O-Si((C <u>H</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 24.1°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) =	174.8,	<u>C</u> OOH
	154.9, 154.5	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃

140.2, 138.8	$\underline{\text{C}}=\text{CH}$	
122.2, 121.3	$\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$	
79.1, 78.9	$\text{N-COO-}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$	
67.0, 66.8	$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-OTBDMS}$	
48.5, 48.1	$\text{CH}_2\text{-CH-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N}$	*)
46.0, 45.6	$\text{N-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH=C}$	*)
42.5, 42.1	$\text{COOH-}\underline{\text{C}}\text{H}$	
28.2, 28.1	$\text{N-COO-C(}\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$	
27.7	$\text{CH-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-C}$	
26.0	$\text{O-Si}((\text{CH}_3)_2)\text{-C(}\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$	
18.1	$\text{O-Si}((\text{CH}_3)_2)\text{-}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$	
-5.1, -5.2	$\text{O-Si(}\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{-C(CH}_3)_3$	

MS (ES+):

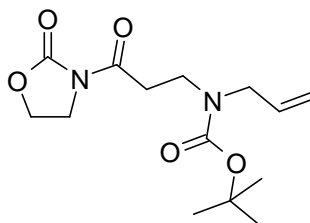
m/z (%) = 386 (61, $[M+H]^+$), 789 (100, $[2M+NH_4]^+$)

HRMS (ES+):

m/z calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{NO}_5\text{SiNa}$: 408.218222

found : 408.220547

Allyl-[3-oxo-3-(2-oxo-oxazolidin-3-yl)-propyl]-carbamic acid *tert*-butyl ester
(109)



To a solution of **121** (9.011g, 39.30 mmol, 1.0 equiv.) in THF, *N*-methylmorpholine (4.34 mL, 39.30 mmol, 1.0 equiv.) and pivaloyl chloride (4.86 mL, 39.30 mmol, 1.0 equiv.) were added dropwise at 0°C. After stirring for 1 h, the reaction mixture was cooled to -78°C. To a solution of 2-oxazolidinone (3.422 g, 39.30 mmol, 1.0 equiv.) in THF (150 mL), *n*-BuLi (2.5

molar in hexane, 39.30 mmol, 1.0 equiv.) was added at -78°C . The reaction mixture was stirred for 30 min at this temperature. It was then added slowly to the above reaction mixture and stirred for 2 h maintaining the temperature at -78°C . The reaction mixture was allowed to reach room temperature and was stirred for 18 h. After addition of saturated NH_4Cl solution, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure, and the aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layers were washed twice with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1.5:1) afforded 8.910 g (76%) of **109** as a colorless oil.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 20.8°C , 500.16 MHz):

δ_{H} (ppm) =	5.79	sm, 1H, $^3J = 16.9$ Hz, $^3J = 10.6$ Hz, $^3J = 5.7$ Hz; $\underline{\text{CH}}=\text{CH}_2$
	5.13	psd, 2H, $^3J = 10.0$ Hz; $\text{CH}=\underline{\text{CH}}_2$
	4.42	pst, 2H; $\text{O}-\underline{\text{CH}}_2$
	4.00	bs, 2H; $\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{N}$
	3.94 – 3.76	m, 2H; $\text{N}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$
	3.61 – 3.44	m, 2H; $\text{CO}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{N}$
	3.61	bs, 2H; $\text{CO}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{N}$
	1.44	bs, 9H; $\text{N}-\text{COO}-\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_3$

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 23.4°C , 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ_{C} (ppm) =	171.6	$\text{N}-\underline{\text{C}}=\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$
	155.3	$\text{N}-\underline{\text{C}}\text{OO}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$
	153.5	$\text{O}-\underline{\text{C}}=\text{O}-\text{N}$
	134.1	$\underline{\text{CH}}=\text{CH}_2$
	116.6, 116.4	$\text{CH}=\underline{\text{CH}}_2$
	79.8, 79.7	$\text{N}-\text{COO}-\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$
	62.1	$\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-\text{C}=\text{O}-\text{N}$
	50.2	$\text{N}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ *)
	49.8	$\text{N}-\text{C}=\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{N}$ *)
	42.4, 42.1	$\underline{\text{CH}}_2-\text{N}-\text{C}=\text{O}-\text{O}-\text{CH}_2$
	34.4	$\text{N}-\text{C}=\text{O}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{N}$
	28.4	$\text{N}-\text{COO}-\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_3$

MS (ES+):

$$m/z (\%) = 299 (100, [M+H]^+), 614 (33, [2M+NH_4]^+)$$

HRMS (ES⁺):

m/z calculated for C₁₄H₂₂N₂O₅Na : 321.142642

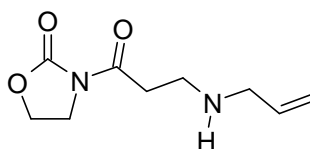
found : 321.143897

EA: $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$ (298.34 g/mol)

calcd.: C: 56.36 H: 7.43 N: 9.39

found: C: 55.94 H: 7.39 N: 9.19

3-(3-Allylamino-propionyl)-oxazolidin-2-one (111)



To a solution of **113** (0.706 g, 5.0 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (25 mL), a solution of TEA (1.4 mL, 10.0 mmol, 2.0 equiv.) in HOAc (0.6 mL, 10.0 mmol, 2.0 equiv.) was added at room temperature and stirred for 5 min. Allylamine (0.75 mL, 10.0 mmol, 2.0 equiv.) was added slowly, and the reaction mixture was stirred for 2 h at ambient temperature. After quenching the reaction through addition of saturated NH₄Cl solution, the reaction mixture was extracted three times with DCM, washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The remaining product was purified by flash chromatography (DCM/MeOH: 95:5) and gave rise to 0.405 g (41%) of **111** as a colorless oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 21.9°C, 399.78 MHz):

δ_{H} (ppm) =	5.80	ddt, 1H, $^3J = 16.7$ Hz, $^3J = 10.5$ Hz, $^3J = 6.2$ Hz; $\text{C}\underline{\text{H}}=\text{CH}_2$
	5.26	dq, 1H, $^3J = 9.0$ Hz, $^2J = ^4J = 1.4$ Hz; $\text{CH}=\text{C}\underline{\text{H}}_2$
	5.25	dq, 1H, $^3J = 18.1$ Hz, $^2J = ^4J = 1.4$ Hz; $\text{CH}=\text{C}\underline{\text{H}}_2$
	4.08 – 4.02	sm, 4H; $\text{O}-\text{C}\underline{\text{H}}_2$, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}\underline{\text{H}}_2-\text{N}$
	3.77	pst, 2H, $^3J = 5.3$ Hz; $\text{N}-\text{C}\underline{\text{H}}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$
	3.37	t, 2H, $^3J = 6.9$ Hz; $\text{CO}-\text{CH}_2-\text{C}\underline{\text{H}}_2-\text{N}$

2.75	t, 2H, $^3J = 6.9$ Hz; CO- <u>CH</u> ₂ -CH ₂ -N
2.64	bs, 1H; N <u>H</u>

¹³C-NMR (CDCl₃, 23.8°C, 100.53 MHz, COM):

δ _C (ppm) = 169.6	N- <u>C</u> =O-CH ₂ -CH ₂ -N
154.1	O- <u>C</u> =O-N
131.9	<u>CH</u> =CH ₂
118.3	CH= <u>CH</u> ₂
61.3	O- <u>CH</u> ₂
50.5	N- <u>CH</u> ₂ -CH=CH ₂
43.1	N-C=O-CH ₂ - <u>CH</u> ₂ -N
40.1	<u>CH</u> ₂ -N-C=O
31.3	N-C=O- <u>CH</u> ₂ -CH ₂ -N

MS (EI+):

m/z (%) = 198 (64, *M*⁺), 168 (87), 167 (34), 155 (100), 125 (59), 111 (26), 84 (23),
70 (49), 69 (32), 41 (22)

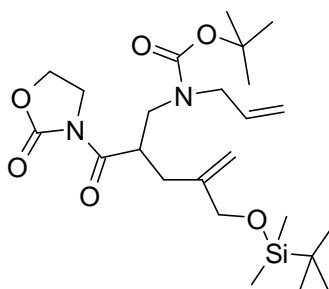
HRMS (EI+):

m/z	calculated for C ₉ H ₁₄ N ₂ O ₃	: 198.100442
	found	: 198.100101

EA: C₉H₁₄N₂O₃* 0.5H₂O (207.23 g/mol)

calcd.:	C: 52.16	H: 7.30	N: 13.52
found:	C: 52.65	H: 7.29	N: 13.25

Allyl-[4-(*tert*-butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-2-(2-oxo-oxazolidine-3-carbonyl)-pent-4-enyl]-carbamic acid *tert*-butyl ester (124)



To a solution of 0.6 M NaHMDS (7.5 mL, 4.5 mmol, 1.5 equiv.) in THF (10 mL), a solution of the respective ester **109** (1.290 g, 4.5 mmol, 1.5 equiv.) in THF (10 mL) was added at -78°C . After stirring for 1 h, a solution of the respective allyliodide derivative **126** (0.937 g, 3.0 mmol, 1.0 equiv.) in THF (5 mL) was then added slowly. The reaction mixture was stirred for 15 min maintaining the temperature at -78°C and then warmed to -45°C and kept at this temperature until TLC indicated the completion of the reaction (approx. 2 h). After subsequent addition of Et_2O and a saturated NH_4Cl solution, the organic layer was separated and the aqueous layer was extracted twice with ether. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The remaining product was purified by flash chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:1) and gave rise to 0.831 g (58%) of **124** as a colorless oil.

^1H -NMR (CDCl_3 , 19.5°C , 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ_{H} (ppm) =	5.77 – 5.67	sm, 1H; C <u>H</u> =CH ₂	
	5.07	psd, 3H; CH ₂ -C=C <u>H</u> ₂ , CH ₂ -CH=C <u>H</u> ₂	
	4.84	bs, 1H; CH ₂ -C=C <u>H</u> ₂	
	4.50	bs, 0.5H; CO-C <u>H</u> -CH ₂	
	4.34	bs, 2.5H; CO-C <u>H</u> -CH ₂ , C <u>H</u> ₂ -OTBDMS	
	4.06	bd, 1H, $^2J = 14.3$ Hz; O-C <u>H</u> ₂ -CH ₂ -N	part A of an AB-system
	4.03	bd, 1H, $^2J = 14.3$ Hz; O-C <u>H</u> ₂ -CH ₂ -N	part B of an AB-system
	3.96	pst, 2H; O-CH ₂ -C <u>H</u> ₂ -N	
	3.84 – 3.66	m, 2H; N-C <u>H</u> ₂ -CH=CH ₂	
	3.46 – 3.28	m, 2H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH ₂	
	2.49 – 2.28	m, 1H; N-CH ₂ -CH-C <u>H</u> ₂ -C=CH ₂	
	2.18 – 2.10	m, 1H; N-CH ₂ -CH-C <u>H</u> ₂ -C=CH ₂	
	1.44	bs, 4.5H; N-COO-C(C <u>H</u> ₃) ₃	
	1.39	bs, 4.5H; N-COO-C(C <u>H</u> ₃) ₃	
	0.88	s, 9H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(C <u>H</u> ₃) ₃	
	0.03	s, 6H; O-Si((C <u>H</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 23.2°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ_{C} (ppm) =	175.1, 174.7	N- <u>C</u> =O-CH	
	155.6, 155.4	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃	*)
	153.4, 153.1	O- <u>C</u> =O-N	*)
	145.7, 145.4	CH ₂ - <u>C</u> =CH ₂	
	133.8	<u>C</u> H=CH ₂	
	116.2	CH= <u>C</u> H ₂	
	110.9, 110.4	CH ₂ -C= <u>C</u> H ₂	
	80.2, 79.7	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
	65.7, 65.5	<u>C</u> H ₂ -OTBDMS	
	61.8	O- <u>C</u> H ₂ -CH ₂ -N	
	50.5, 50.0	N- <u>C</u> H ₂ -CH=CH ₂	*)
	49.1, 48.8	N-C=O-CH- <u>C</u> H ₂ -N	*)
	42.9	<u>C</u> H ₂ -N-C=O-O-CH ₂	
	40.8, 40.6	N-C=O- <u>C</u> H	
	33.5, 32.9	N-C=O-CH- <u>C</u> H ₂	
	28.3	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃	
	25.9	O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>C</u> H ₃) ₃	
	18.4	O-Si((CH ₃) ₂)- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
	-5.4	O-Si(<u>C</u> H ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	

MS (ES+):

m/z (%) = 483 (12, $[M+H]^+$), 506 (4, $[M+Na]^+$)

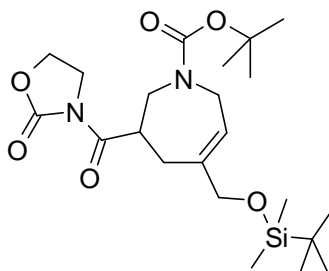
HRMS (ES+):

m/z	calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6\text{SiNa}$: 505.270986
	found	: 505.274452

EA: $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ (482.70 g/mol)

calcd.:	C: 59.72	H: 8.77	N: 5.80
found:	C: 59.64	H: 8.82	N: 5.77

5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-3-(2-oxo-oxazolidine-3-carbonyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (125**)**

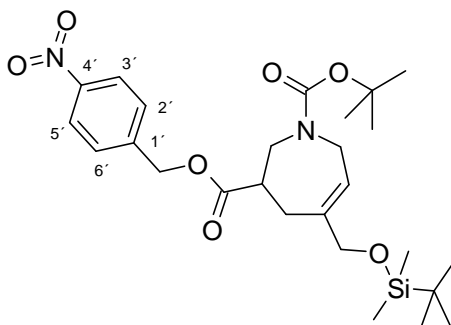


A solution of **124** (0.483g, 1.0 mmol, 1.0 equiv.) in 90 mL of thoroughly degassed DCM was heated to 40°C and benzyliden-[1,3-bis-(2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinylidene]-dichloro-(tricyclohexylphosphine)-ruthenium (Grubbs 2 catalyst, 2 mol%), dissolved in 1.5 mL of degassed DCM, was added to the reaction mixture. After stirring for 2.5 h at 40°C, the reaction mixture was allowed to reach room temperature. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure, followed by column chromatography of the oily residue, which gave rise to 0.400 g (88%) of the corresponding azepine **125**.

¹H-NMR (CDCl₃, 21.0°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) =	5.73	bs, 0.5H; C $\underline{\text{H}}$ =CH ₂
	5.62	bs, 0.5H; C $\underline{\text{H}}$ =CH ₂
	4.44 – 4.33	m, 2H; C $\underline{\text{H}}_2$ -OTBDMS
	4.10 – 3.99	m, 2H; O-C $\underline{\text{H}}_2$ -CH ₂ -N
	3.99 – 3.91	m, 4H; O-CH ₂ -C $\underline{\text{H}}_2$ -N, N-C $\underline{\text{H}}_2$ -CH=C
	3.89 – 3.78	m, 1.5H; N-C $\underline{\text{H}}_2$ -CH-CH ₂ -C=CH
	3.76 – 3.72	m, 1H; CO-C $\underline{\text{H}}$ -CH ₂
	3.62	dd, 0.5H, ² J = 14.3 Hz, ³ J = 7.2 Hz; N-C $\underline{\text{H}}_2$ -CH-CH ₂ -C=CH
	2.48 – 2.39	m, 1H; N-CH ₂ -CH-C $\underline{\text{H}}_2$ -C=CH ₂
	2.18 – 2.09	sm, 1H; N-CH ₂ -CH-C $\underline{\text{H}}_2$ -C=CH ₂
	1.41	s, 4.5H; N-COO-C(C $\underline{\text{H}}_3$) ₃
	1.39	s, 4.5H; N-COO-C(C $\underline{\text{H}}_3$) ₃
	0.87	s, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(C $\underline{\text{H}}_3$) ₃
	0.86	s, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(C $\underline{\text{H}}_3$) ₃
	0.03	s, 4.5H; O-Si((C $\underline{\text{H}}_3$) ₂)-C(CH ₃) ₃
	0.02	s, 4.5H; O-Si((C $\underline{\text{H}}_3$) ₂)-C(CH ₃) ₃

5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1,3-dicarboxylic acid 1-*tert*-butyl ester 3-(4-nitro-benzyl) ester (128)



Compound **128** was prepared according to general procedure method A. Reaction of **90** (1.740 g, 4.50 mmol, 1.0 equiv.) with *p*-nitrobenzyl alcohol (0.827 g, 5.40 mmol, 1.2 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 4:1) afforded 1.030 g (44%) of **128** as a red oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 18.9°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) = 8.21	pst, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3' / H-5'
7.50	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-2' / H-6'
5.68	bs, 0.5H; C <u>H</u> =C
5.64	bs, 0.5H; C <u>H</u> =C
5.25 – 5.15	m, 2H; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl-C <u>H</u> ₂
4.23 – 4.13	sm, 0.5H; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
4.12 – 4.03	sm, 0.5H; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
4.03 – 3.98	m, 0.5H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.98 – 3.91	bd, 2H; C <u>H</u> ₂ -OTBDMS
3.86	sm, 1H; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
3.77	sm, 0.5H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.54	sm, 1H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.00 – 2.89	m, 1H; CO-C <u>H</u> -CH ₂
2.43 – 2.29	m, 2H; N-CH ₂ -CH-C <u>H</u> ₂ -C=CH
1.42	pss, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.87	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.86	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.64 – 0.30	bd, 6H; O-Si(<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 23.2°C, 500.16 MHz, COM, rotamers):

δ_{C} (ppm) = 173.2	$\underline{\text{C}}=\text{O}-\text{CH}$	
155.4, 155.0	$\text{N}-\underline{\text{C}}\text{OO}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$	
147.7	$\text{C}-4'$	
143.1, 143.0	$\text{C}-1'$	
139.3, 138.0	$\underline{\text{C}}=\text{CH}$	
128.5, 128.4	$\text{C}-2'/\text{C}-6'$	
123.8	$\text{C}-3'/\text{C}-5'$	
121.9, 121.6	$\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$	
80.0, 79.9	$\text{N}-\text{COO}-\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$	
67.4, 67.2	$\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OTBDMS}$	
65.0	$p\text{-O}_2\text{N-Phenyl}-\underline{\text{C}}\text{H}_2$	
48.3, 48.0	$\text{CH}_2-\text{CH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{N}$	*)
46.7	$\text{N}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}=\text{C}$	*)
43.0, 42.3	$\text{O}-\text{C}=\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}$	
28.4, 28.3	$\text{N}-\text{COO}-\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$	
28.1, 27.5	$\text{CH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}$	
25.9	$\text{O}-\text{Si}((\text{CH}_3)_2)-\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$	
18.3	$\text{O}-\text{Si}((\text{CH}_3)_2)-\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$	
-5.3, -5.4	$\text{O}-\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$	

MS (ES+):

m/z (%) = 543 (100, $[M+\text{Na}]^+$)

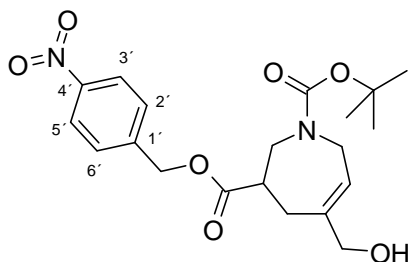
HRMS (ES+):

m/z	calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_7\text{SiNa}$: 543.250250
	found : 543.251393

EA: $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_7\text{Si}$ (520.70 g/mol)

calcd.:	C: 59.97	H: 7.74	N: 5.38
found:	C: 60.09	H: 7.85	N: 5.43

5-Hydroxymethyl-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1,3-dicarboxylic acid 1-*tert*-butyl ester 3-(4-nitro-benzyl) ester (129)



Following the general procedure (method D), use of **128** (0.776 g, 1.50 mmol, 1.0 equiv.) rendered 0.487 g (80%) of **129** as a colorless oil after column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:1).

¹H-NMR (CDCl₃, 20.0°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) = 8.23	t, 2H, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; H-3' / H-5'
7.53	sm, 2H; H-2' / H-6'
5.68	m, 0.5H; <u>CH</u> =C
5.65	m, 0.5H; <u>CH</u> =C
5.27 – 5.19	m, 2H; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂
4.31	bd, 0.5H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C
4.13	bd, 0.5H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C
4.07 – 3.96	bd, 2H; <u>CH</u> ₂ -OH
3.96 – 3.87	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C
3.82	bd, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.62	dd, 0.5H, ² <i>J</i> = 14.0 Hz, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.54	dd, 0.5H, ² <i>J</i> = 14.3 Hz, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.18 – 3.05	m, 1H; CO- <u>CH</u> -CH ₂
2.58 – 2.41	m, 2H; N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C=CH
2.08	bt, 0.5H, ³ <i>J</i> = 5.7 Hz; CH ₂ - <u>OH</u>
1.88	bt, 0.5H; ³ <i>J</i> = 5.7 Hz; CH ₂ - <u>OH</u>
1.46	bs, 4.5H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
1.45	bs, 4.5H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 20.7°C, 500.16 MHz, COM, rotamers):

δ_{C} (ppm) =	173.8, 173.6	$\underline{\text{C}}=\text{O}-\text{CH}$	
	155.2, 155.0	$\text{N}-\underline{\text{C}}\text{OO}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$	
	147.7	$\text{C}-4'$	
	142.9, 142.8	$\text{C}-1'$	
	139.2, 137.9	$\underline{\text{C}}=\text{CH}$	
	128.52, 128.48	$\text{C}-2'/\text{C}-6'$	
	123.9, 123.82	$\text{C}-3'/\text{C}-5'$	*)
	123.80	$\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$	*)
	80.2, 80.1	$\text{N}-\text{COO}-\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$	
	68.3, 68.2	$\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OH}$	
	65.2	$p\text{-O}_2\text{N-Phenyl}-\underline{\text{C}}\text{H}_2$	
	48.0, 47.8	$\text{CH}_2-\text{CH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{N}$	*)
	47.2, 47.0	$\text{N}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}=\text{C}$	*)
	43.1, 42.2	$\text{O}-\text{C}=\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}$	
	28.4, 28.3	$\text{N}-\text{COO}-\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$	
	27.8, 27.4	$\text{CH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}$	

MS (ES^+):

m/z (%) = 429 (100, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 835 (17, $[2\text{M}+\text{Na}]^+$)

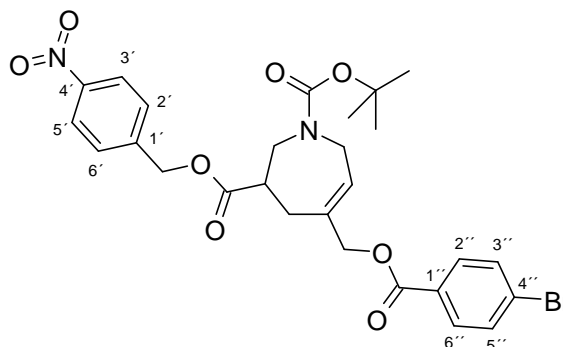
HRMS (ES^+):

m/z	calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_7$: 407.181827
	found	: 407.181744

EA: $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7$ (406.44 g/mol)

calcd.:	C: 59.10	H: 6.45	N: 6.89
found:	C: 59.14	H: 6.58	N: 7.08

5-(4-Bromo-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1,3-dicarboxylic acid 1-*tert*-butyl ester 3-(4-nitro-benzyl) ester (130)



Compound **130** was prepared according to general procedure (method A). Reaction of **129** (2.032 g, 5.0 mmol, 1.0 equiv.) with 4-bromobenzoic acid (1.206 g, 6.0 mmol, 1.2 equiv.) and subsequent column chromatography (hexanes/*t*-BuOMe: 1:4) afforded 1.937g (66%) of **130** as a colorless oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 21.3°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) = 8.18	bd, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3' / H-5'	
7.86	dt, 2H, ³ <i>J</i> = 8.9 Hz, ⁴ <i>J</i> = 2.0 Hz; H-2'' / H-6''	
7.55	dt, 2H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz, ⁴ <i>J</i> = 2.0 Hz; H-2' / H-6'	
7.49 – 7.44	m, 2H; H-3'' / H-5''	
5.79	s, 1H; <u>CH</u> =CH ₂	
5.21 – 5.13	m, 2H; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	
4.73 – 4.63	m, 2H; <i>p</i> -Br-Phenyl-CO- <u>CH</u> ₂	
4.27	bd, 0.5H, ³ <i>J</i> = 16.9 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=CH ₂	*)
4.12	bd, 0.5H, ³ <i>J</i> = 17.5 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=CH ₂	*)
4.00	dd, 0.5H, ³ <i>J</i> = 6.6 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=CH ₂	*)
3.93 – 3.80	m, 1.5H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=CH ₂ , N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH	*)
3.67 – 3.56	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH	*)
3.11 – 3.00	m, 1H; CO- <u>CH</u> -CH ₂	
2.59 – 2.48	m, 2H; N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C=CH ₂	
1.45	bs, 0.5H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃	
1.43	bs, 0.5H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃	

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 22.9°C, 500.16 MHz, COM, rotamers):

δ_{C} (ppm) =	173.0, 172.9	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>C</u> =O
	165.5, 165.4	<i>p</i> -Br-Phenyl- <u>C</u> =O
	155.3, 155.0	N- <u>COO</u> -C(CH ₃) ₃
	147.8, 147.7	C-4'
	142.9, 142.7	C-1'
	134.7, 133.3	<u>C</u> =CH
	131.9, 131.8	C-2''/ C-6''
	131.1	C-3''/ C-5''
	129.0, 128.9	C-1''
	128.5, 128.4	C-2'/ C-6'
	127.2, 126.9	C-4''
	124.0	C= <u>CH</u>
	123.9, 123.8	C-3'/ C-5'
	80.4, 80.2	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
	69.5	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂
	65.1	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂
	47.8, 47.7	CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -N *)
	46.8	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C *)
	43.0, 42.3	O-C=O- <u>CH</u>
	28.4, 28.3	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
	27.9	CH- <u>CH</u> ₂ -C

MS (ES+):

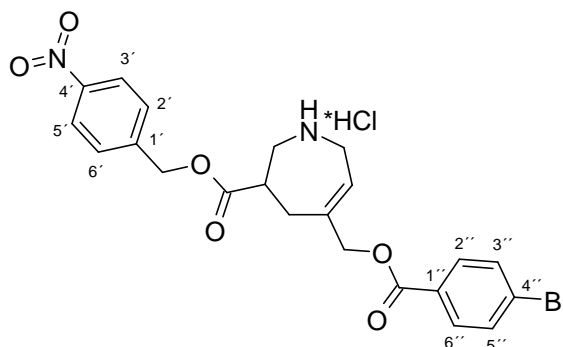
m/z (%) = 591 (100, $[M+H]^+$), 608 (86, $[M+NH_4]^+$)

HRMS (ES+):

m/z calculated for C₂₇H₂₉BrN₂O₈Na: 611.100497
found : 611.098308

EA: C₂₇H₂₉BrN₂O₈ (589.44 g/mol)
calcd.: C: 55.02 H: 4.96 N: 4.75
found: C: 54.93 H: 5.13 N: 4.81

5-(4-Bromo-benzoyloxymethyl)-3-(4-nitro-benzyloxycarbonyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepinium chloride (131)



According to the general procedure (method B), employment of **130** (0.456 g, 0.77 mmol, 1.0 equiv.) gave rise to 0.381 g (94%) of **131** as a colorless solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ_{H} (ppm) = 9.19	bs, 2H, <u>NH</u> ₂	
8.19	dt, 2H, ³ <i>J</i> = 8.9 Hz, ⁴ <i>J</i> = 2.0 Hz; H-3' / H-5'	
7.87	dt, 2H, ³ <i>J</i> = 8.9 Hz, ⁴ <i>J</i> = 2.0 Hz; H-2'' / H-6''	
7.70	dt, 2H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz, ⁴ <i>J</i> = 2.0 Hz; H-3'' / H-5''	
7.64	dt, 2H; ³ <i>J</i> = 8.6 Hz, ⁴ <i>J</i> = 2.0 Hz; H-2' / H-6'	
5.90	t, 1H; ³ <i>J</i> = 5.9 Hz; <u>CH</u> =C	
5.30	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.5 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	part A of an AB-system
5.26	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.5 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	part B of an AB-system
4.79	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.5 Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂	part A of an AB-system
4.74	d, 1H, ² <i>J</i> = 13.5 Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂	part B of an AB-system
3.78	dd, 1H, ² <i>J</i> = 15.5 Hz, ³ <i>J</i> = 6.0 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	
3.70	dd, 1H, ² <i>J</i> = 15.8 Hz, ³ <i>J</i> = 5.7 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	
3.55	dd, 1H, ² <i>J</i> = 13.3 Hz, ³ <i>J</i> = 4.6 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH	
3.49	dd, 1H, ² <i>J</i> = 13.3 Hz, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH	
3.27 – 3.21	m, 1H; CO- <u>CH</u> -CH ₂	
2.75 – 2.72	m, 2H; N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C=CH	

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 26.0°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ_{C} (ppm) =	171.4	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>C</u> =O
	164.7	<i>p</i> -Br-Phenyl- <u>C</u> =O
	147.3	C-4'
	143.5	C-1'
	140.4	<u>C</u> =CH
	132.0	C-3''/ C-5'' *)
	131.2	C-2''/ C-6'' *)
	128.9	C-1''
	128.7	C-2'/ C-6'
	127.7	C-4''
	123.6	C-3'/ C-5'
	121.4	C= <u>C</u> H
	68.2	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>C</u> H ₂
	65.3	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>C</u> H ₂
	48.2	CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂ -N
	42.9	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C
	39.2	O-C=O- <u>C</u> H
	29.6	CH- <u>C</u> H ₂ -C

MS (ES⁺):

m/z (%) = 491 [Br^{81}](100, $[M+H]^+$), 979 [Br^{81}](28, $[2M+H]^+$)

HRMS (ES⁺):

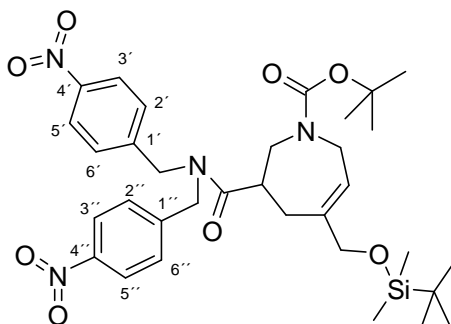
m/z	calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{Br}$: 489.064418
	found	: 489.066123

EA: $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{Cl}$ (525.78 g/mol)

calcd.:	C: 50.26	H: 4.22	N: 5.33
found:	C: 50.14	H: 4.54	N: 5.18

Melting point: 152°C

3-[Bis-(4-nitro-benzyl)-carbamoyl]-5-(*tert*-butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (148)



According to the general procedure (method E), employment of **90** (1.851 g, 4.80 mmol, 1.0 equiv.) with bis-(4-nitro-benzyl)-amine (1.655 g, 5.76 mmol, 1.2 equiv.) furnished 0.987 g (31%) of **148** as a colorless oil after column chromatography (*t*-BuOMe/hexanes: 6:4).

¹H-NMR (CDCl₃, 19.9°C, 500.16 MHz, rotamers):

δ _H (ppm) = 8.20	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-3' / H-5'	
8.17	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.9 Hz; H-3'' / H-5''	
7.36	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-2' / H-6'	
7.34	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.9 Hz; H-2'' / H-6''	
5.92 – 5.77	m, 1H; <u>CH</u> =C	
5.19	d, ³ <i>J</i> = 17.6 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	} 1.31H
5.17	d, ³ <i>J</i> = 17.3 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	
4.79	d, 0.23H, ³ <i>J</i> = 15.2 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	} 0.91H
4.65	d, 0.25H, ³ <i>J</i> = 18.0 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	
4.56	d, 0.26H, ³ <i>J</i> = 18.0 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	
4.47	d, ³ <i>J</i> = 14.9 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	
4.45	d, ³ <i>J</i> = 18.0 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	
4.22	d, 1H, ³ <i>J</i> = 15.1 Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂	
4.19	sm, 1H; C=O- <u>CH</u>	
4.03 – 3.84	m, 2H; <u>CH</u> ₂ -OTBDMS	
3.71	d, 0.78H, ³ <i>J</i> = 14.0 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH	
3.66 – 3.52	m, 0.87H; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH	

3.48	d, 0.69H, $^3J = 15.8$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -C=CH
2.94 – 2.77	m, 0.6H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH
2.70 – 2.57	psq, 1.34H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH
2.54 – 2.49	sm, 0.28H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
2.40 – 2.30	m, 0.58H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
2.09	d, 0.75H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
1.38	s, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.81	s, 9H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
-0.07	s, 3H; O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃
-0.08	s, 3H; O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 21.3°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 174.3	<u>C</u> =O-CH
155.5	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
147.6, 147.5	C-4', C-4''
144.43, 144.38	C-1', C-1''
142.0	<u>C</u> =CH
128.7	C-2' / C-6' *)
127.0	C-2'' / C-6'' *)
124.5, 124.3	C-3' / C-5' *)
124.1	C-3'' / C-5'' *)
123.2	C= <u>CH</u>
80.1	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
67.9, 67.1	<u>CH</u> ₂ -OTBDMS
52.8	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂ *)
50.7, 50.2	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂ *)
49.0	CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -N *)
46.1, 45.6	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C *)
40.3, 40.0	N-C=O- <u>CH</u>
31.5	CH- <u>CH</u> ₂ -C
28.4, 28.3	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
25.9, 25.8	O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
18.3	O-Si((CH ₃) ₂)- <u>C</u> (CH ₃) ₃
-5.4, -5.5	O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

3.76 – 3.61	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH
3.44	dd, 1H, ² J = 14.2, ³ J = 7.8 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH
2.45 – 2.30	bd, 1H; OCH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
2.25	pst, 1H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
2.17 – 2.08	m, 1H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
1.42	s, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.87	s, 9H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.02	s, 6H; O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 26.0°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 166.3	<u>COOCH</u> ₂	
155.4, 155.2	N- <u>COO</u> -C(CH ₃) ₃	
140.1, 139.2	<u>C</u> =CH	
132.95, 132.86	<u>C</u> -4'	
130.1	C-1'	
129.6	C-2' / C-6'	
128.3	C-3' / C-5'	
122.0, 121.9	C= <u>CH</u>	
79.7, 79.4	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
67.7, 67.3	<u>CH</u> ₂ -OTBDMS	
66.91, 66.85	O <u>CH</u> ₂ -CH	
49.5, 49.4	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	*)
46.2	N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C	*)
37.0, 36.6	N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂	
29.4, 29.0	N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂	
28.4	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃	
25.9	O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃	
18.3	O-Si((CH ₃) ₂)- <u>C</u> (CH ₃) ₃	
-5.46	O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	
-5.43	O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃	

MS (ES⁺):

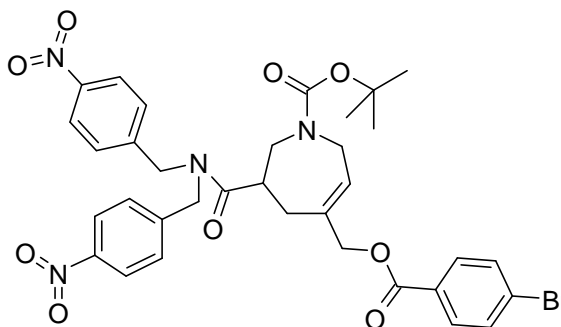
m/z (%) = 541 (100, [M+H]⁺), 558 (5, [M+NH₄]⁺)

HRMS (ES):

m/z	calculated for C ₂₆ H ₄₂ NO ₅ Si	: 476.283227
	found	: 476.284998

EA:	C ₂₆ H ₄₁ NO ₅ Si	(475.71 g/mol)
	calcd.: C: 65.65 H: 8.69 N: 2.94	
	found: C: 65.64 H: 8.75 N: 2.87	

3-[Bis-(4-nitro-benzyl)-carbamoyl]-5-(4-bromo-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (150**)**



According to the general procedure (method E), employment of **149** (0.108 g, 0.20 mmol, 1.0 equiv.) with 4-bromobenzoic acid (0.048 g, 0.24 mmol, 1.2 equiv.) furnished 0.060 g (41%) of **150** as a colorless oil after column chromatography (*t*-BuOMe/hexanes: 2:1).

¹H-NMR (CDCl₃, 22.5°C, 500.16 MHz):

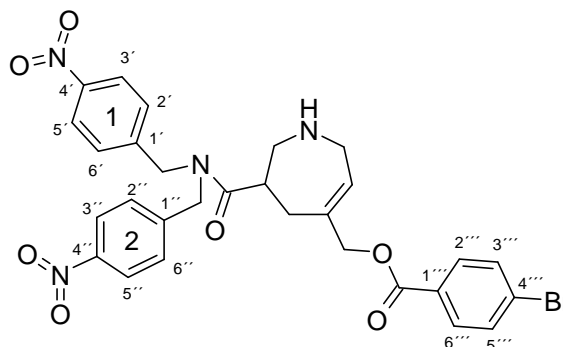
δ _H (ppm) = 8.02	dd, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz, ⁴ <i>J</i> = 1.2 Hz; H-2' / H-6'
7.54	sm, 1H; H-4'
7.42	pst, 2H; H-3' / H-5'
5.73	s, 1H; C <u>H</u> =C
4.20	d, 2H, ³ <i>J</i> = 6.9 Hz; O-C <u>H</u> ₂ -CH
4.05 - 3.86	m, 2H; N-C <u>H</u> ₂ -C=CH
3.97	s, 2H; OC <u>H</u> ₂ -C=C
3.76 – 3.61	m, 1H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH
3.44	dd, 1H, ² <i>J</i> = 14.2, ³ <i>J</i> = 7.8 Hz; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -CH
2.45 – 2.30	bd, 1H; OCH ₂ -C <u>H</u> -CH ₂ -N

2.25	pst, 1H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
2.17 – 2.08	m, 1H; CH- <u>CH</u> ₂ -C=C
1.42	s, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.87	s, 9H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.02	s, 6H; O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 26.0°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 166.3	<u>C</u> OOCH ₂
155.4, 155.2	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
140.1, 139.2	<u>C</u> =CH
132.95, 132.86	<u>C</u> -4'
130.1	C-1'
129.6	C-2' / C-6'
128.3	C-3' / C-5'
122.0, 121.9	C= <u>CH</u>
79.7, 79.4	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
67.7, 67.3	<u>CH</u> ₂ -OTBDMS
66.91, 66.85	O <u>CH</u> ₂ -CH
49.5, 49.4	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C *)
46.2	N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C *)
37.0, 36.6	N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂
29.4, 29.0	N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂
28.4	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
25.9	O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
18.3	O-Si((CH ₃) ₂)- <u>C</u> (CH ₃) ₃
-5.46	O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃
-5.43	O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

4-Bromo-benzoic acid 6-[bis-(4-nitro-benzyl)-carbamoyl]-2,5,6,7-tetrahydro-1*H*-azepin-4-ylmethyl ester (151**)**



According to the general procedure (method B), employment of **150** (0.296 g, 0.41 mmol) gave rise to 0.260 g (96%) of **151** as a colorless solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz):

δ_{H} (ppm) = 8.15	dd, 4H, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-3'/ H-5', H-3''/ H-5''
7.81	dt, 2H, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-2'''/ H-6'''
7.67	dt, 2H, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-3'''/ H-5'''
7.43	d, 2H, $^3J = 8.6$ Hz; H-2'/ H-6' *)
7.42	d, 2H, $^3J = 8.6$ Hz; H-2''/ H-6'' *)
5.87	bs, 1H; C=CH
4.89	d, 1H, $^2J = 17.8$ Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO-CH ₂
4.75	d, 1H, $^2J = 15.8$ Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl(1)-CH ₂ -N
4.67	d, 1H, $^2J = 18.0$ Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO-CH ₂
4.57	d, 1H, $^2J = 12.6$ Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl(2)-CH ₂ -N
4.50	d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl(2)-CH ₂ -N
4.47	d, 1H, $^2J = 15.5$ Hz; <i>p</i> -O ₂ N-Phenyl(1)-CH ₂ -N
3.27 – 3.22	m, 2H; N-CH ₂ -CH=C
3.22 – 3.15	m, 1H; N-CH ₂ -CH
2.96 – 2.85	m, 2H; N-CH ₂ -CH, CH-CH ₂ -C
2.76 – 2.68	m, 1H; N-CH ₂ -CH-CH ₂
2.19 – 2.12	m, 1H; CH-CH ₂ -C

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 26.0°C , 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ_{C} (ppm) = 175.0	N- <u>C</u> =O-CH
164.9	<i>p</i> -Br-Phenyl- <u>C</u> =O
146.9, 146.7	C-4', C-4''
146.0, 145.6	C-1', C-1''
135.5	<u>C</u> =CH
132.0	C-2'''/ C-6''' *)
131.1	C-3'''/ C-5''' *)
128.9	C-1'''
128.6	C-2'/ C-6' *)
127.9	C-2''/ C-6'' *)
127.6	C-4'''
123.8	C-3'/ C-5'
123.7	C-3''/ C-5'', C= <u>CH</u>
69.9	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂
53.6	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂ -N
50.5	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂ -N
48.5	N- <u>CH</u> ₂ -CH *)
46.7	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C *)
40.2	CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
31.6, 30.6	CH- <u>CH</u> ₂ -C

MS (ES+):

m/z (%) = 625 (100, $[M+H]^+$)

HRMS (ES+):

m/z	calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_7\text{Br}$: 623.114136
	found	: 623.110188

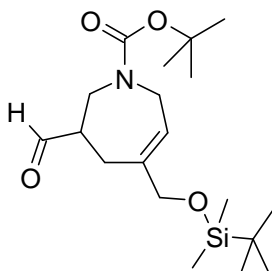
EA: $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{BrN}_4\text{O}_7$ (623.47 g/mol)

calcd.: C: 55.87 H: 4.37 N: 8.99

found: C: 56.09 H: 4.67 N: 8.52

Melting point: 203°C

**5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-3-formyl-2,3,4,7-tetrahydro-
azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (**152**)**



Oxalyl chloride (0.65 mL, 7.50 mmol, 1.5 equiv.) was added dropwise to DCM (10 mL) at -78°C , followed by the addition of DMSO (1.07 mL, 15.0 mmol, 3 equiv.). After stirring for 10 min maintaining the temperature at -78°C , a solution of **21** (1.858 g, 5.0 mmol, 1.0 equiv.), dissolved in DCM (10 mL), was added dropwise over a period of 20 min. After 1.5 h *N*-ethyldiisopropylamine (5.14 mL, 30.0 mmol, 6.0 equiv.) was added slowly, and the reaction mixture was allowed to reach room temperature and stirred for an additional 10 min, quenched with water (30 mL), and the aqueous layer was extracted three times with Et_2O . The combined filtrates were extracted three times with 1% HCl, washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Column chromatography yielded 1.718 g (93%) of **152** as a white solid.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 22.7°C , 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ_{H} (ppm) = 9.69	s, 1H; <u>H</u> C=O
5.63	bs, 0.5H; C <u>H</u> =C
5.62	bs, 0.5H; C <u>H</u> =C
4.16 – 4.06	m, 0.5H; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
4.06 – 3.89	m, 3H; C <u>H</u> ₂ -OTBDMS, N-C <u>H</u> ₂ -CH=C, N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.89 – 3.80	m, 1.5H; N-C <u>H</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.76	dd, 0.5H, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 6.0$ Hz; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
3.63	dd, 0.5H, $^2J = 14.6$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz; N-C <u>H</u> ₂ -CH=C
2.78 – 2.66	m, 1H; CO-C <u>H</u> -CH ₂
2.41 – 2.27	m, 2H; N-CH ₂ -CH-C <u>H</u> ₂ -C=CH
1.42	bs, 4.5H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
1.41	bs, 4.5H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

0.88	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.87	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.04	pss, 6H; O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 25.7°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) =	202.3, 202.0	H- <u>C</u> =O
	155.4, 154.9	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
	139.1, 137.4	<u>C</u> =CH
	121.8, 121.6	C= <u>C</u> H
	80.2, 79.8	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
	67.5, 67.2	<u>C</u> H ₂ -OTBDMS
	50.4, 49.9	H-C=O- <u>C</u> H
	47.0, 46.8	CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂ -N
	45.6, 45.0	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C
	28.2	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃
	25.8	O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>C</u> H ₃) ₃
	25.3, 24.4	CH- <u>C</u> H ₂ -C
	18.2	O-Si((CH ₃) ₂)- <u>C</u> (CH ₃) ₃
	-5.4, -5.5	O-Si((<u>C</u> H ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

MS (ES⁺):

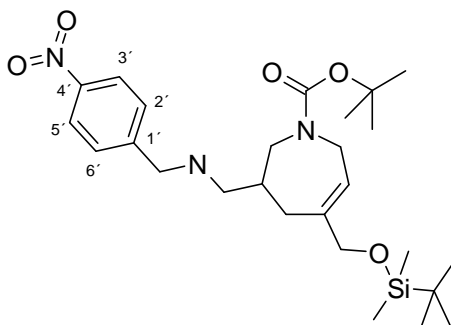
m/z (%) = 392 (100, [M+Na]⁺), 761 (40, [2M+Na]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z	calculated for C ₁₉ H ₃₆ NO ₄ Si	: 370.241362
	found	: 370.239436

EA:	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄ Si	(369.58 g/mol)
	calcd.: C: 61.75 H: 9.55 N: 3.79	
	found: C: 61.55 H: 9.55 N: 3.70	

5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-3-[(4-nitro-benzylamino)-methyl]-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (153**)**



TEA (0.94 mL, 6.70 mmol, 1.5 equiv.) was added to a stirred solution of *p*-nitro-benzylamine hydrochloride (1.265 g, 6.70 mmol, 1.5 equiv.) in MeOH (15 mL). The reaction mixture was stirred for 20 min at room temperature and was then added slowly to a solution of **152** (1.652 g, 4.47 mmol, 1.0 equiv.) in MeOH (40 mL), followed by the dropwise addition of triethyl orthoformate (1.5 mL, 8.94 mmol, 2.0 equiv.) and sodium triacetoxyborohydride (1.42 g, 6.70 mmol, 1.5 equiv.) and stirred at ambient temperature for 4 h. The reaction mixture was quenched with saturated NaHCO₃ solution, and the aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. Column chromatography (*t*-BuOMe) afforded 1.490 g (66%) of **153** as a red oil.

¹H-NMR (CDCl₃, 19.2°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 2:1):

δ _H (ppm) = 8.18	d, 0.67H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3' / H-5'	
8.16	d, 1.33H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-3' / H-5'	
7.51	d, 2H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-2' / H-6'	
5.76	bt, 0.67H, ³ <i>J</i> = 4.9 Hz; <u>CH</u> =C	
5.70	bs, 0.33H; <u>CH</u> =C	
3.99	dd, 0.33H, ³ <i>J</i> = 5.7 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	partially overlaid by CH ₂ -OTBDMS signal
3.96	bs, 3H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C, <u>CH</u> ₂ -OTBDMS	
3.88	bs, 0.67H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- <u>CH</u> ₂	
3.85	bs, 1.33H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- <u>CH</u> ₂	
3.74	dd, 0.67H, ² <i>J</i> = 16.2 Hz, ³ <i>J</i> = 4.6 Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	

3.63	dd, 0.67H, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 6.3$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.58	dd, 0.33H, $^2J = 14.6$ Hz, $^3J = 4.9$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.46	dd, 0.67H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 3.7$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.31	dd, 0.33H, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 6.9$ Hz; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
2.58 – 2.47	m, 1.33H; NH- <u>CH</u> ₂ -CH
2.42	dd, 0.67H, $^2J = 11.9$ Hz, $^3J = 5.4$ Hz; NH- <u>CH</u> ₂ -CH
2.26	dd, 1H, $^2J = 18.2$ Hz, $^3J = 6.3$ Hz; NH-CH ₂ - <u>CH</u>
2.09 – 1.98	m, 2H; N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C=CH
1.44	bs, 6H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
1.42	bs, 3H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.89	bs, 6H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.88	bs, 3H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.04	pss, 6H; O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 23.8°C, 125.77 MHz, APT, rotamers):

δ _C (ppm) = 155.6	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
148.6, 148.5	C-4'
147.0	C-1'
141.6, 139.9	<u>C</u> =CH
128.6, 128.5	C-2' / C-6'
123.5	C-3' / C-5'
121.9, 121.5	C= <u>CH</u>
79.4	N-COO- <u>C</u> (CH ₃) ₃
68.0, 67.4	<u>CH</u> ₂ -OTBDMS
53.3	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>CH</u> ₂ *)
52.3	CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -N *)
50.8	NH- <u>CH</u> ₂ *)
46.1	N- <u>CH</u> ₂ -CH=C *)
37.7, 37.0	NH-CH ₂ - <u>CH</u>
31.4, 30.3	CH- <u>CH</u> ₂ -C
28.5, 28.4	N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
25.9	O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
18.4	O-Si((CH ₃) ₂)- <u>C</u> (CH ₃) ₃
-5.3, -5.4	O-Si((<u>CH</u> ₃) ₂)-C(CH ₃) ₃

MS (ES⁺):

m/z (%) = 506 (100, [M+H]⁺)

HRMS (ES⁺):

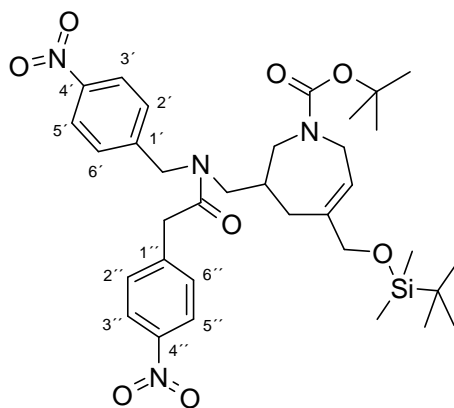
m/z	calculated for C ₂₆ H ₄₄ N ₃ O ₅ Si	: 506.305025
	found	: 506.304122

EA: C₂₆H₄₃N₃O₅Si (505.74 g/mol)

calcd.: C: 61.75 H: 8.57 N: 8.31

found: C: 61.76 H: 8.60 N: 8.23

5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-3-({(4-nitro-benzyl)-[2-(4-nitro-phenyl)-acetyl]-amino}-methyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (154a**)**



According to the general procedure (method E), employment of **153** (0.253 g, 0.50 mmol, 1.0 equiv.) with 4-nitrophenyl acetic acid (0.109 g, 0.60 mmol, 1.2 equiv.) furnished 0.237 g (71%) of **154a** as a colorless oil after column chromatography (*t*-BuOMe).

¹H-NMR (CDCl₃, 19.3°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

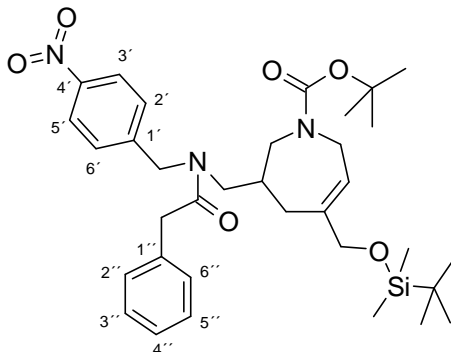
δ _H (ppm) = 8.28 – 8.04	m, 4H; H-3' / H-5', H-3'' / H-5''
7.52 – 7.39	m, 1H, ³ J = 7.7 Hz; H-2' / H-6', H-2'' / H-6''
7.38 – 7.25	m, 3H; H-2' / H-6', H-2'' / H-6''
5.72	bs, 0.5H; C $\underline{\text{H}}$ =C

5.62	bs, 0.5H; $\text{C}\underline{\text{H}}=\text{C}$	
4.94	d, 0.5H, $^2J = 18.0 \text{ Hz}$; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-N}$	part A of an AB-system
4.79	d, 0.5H, $^2J = 18.9 \text{ Hz}$; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-N}$	part B of an AB-system
4.76	d, 0.5H, $^2J = 18.9 \text{ Hz}$; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-N}$	part A of an AB-system
4.67	d, 0.5H, $^2J = 16.6 \text{ Hz}$; N-C=O- $\text{C}\underline{\text{H}}_2$	
4.64	d, 0.5H, $^2J = 16.6 \text{ Hz}$; N-C=O- $\text{C}\underline{\text{H}}_2$	
4.12	d, 0.5H, $^2J = 19.2 \text{ Hz}$; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-N}$	part B of an AB-system
4.23 – 3.76	m, 4H, $^2J = 16.3 \text{ Hz}$; N- $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-CH=C}$, $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-OTBDMS}$, N-C=O- $\text{C}\underline{\text{H}}_2$	
3.72	pss, 1H; $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-OTBDMS}$	
3.62 – 3.00	m, 4H; N- $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C=CH}$, <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\text{CH}_2\text{-N-}\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-CH}$	
2.22	bs, 1H; N- $\text{CH}_2\text{-}\text{C}\underline{\text{H}}\text{-CH}_2$	
2.13 – 1.83	m, 2H; N- $\text{CH}_2\text{-CH-}\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-C=CH}$	
1.50 – 1.29	m, 9H; N-COO-C($\text{C}\underline{\text{H}}_3$) ₃	
0.87	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C($\text{C}\underline{\text{H}}_3$) ₃	
0.85	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C($\text{C}\underline{\text{H}}_3$) ₃	
0.03	bs, 3H; O-Si(($\text{C}\underline{\text{H}}_3$) ₂)-C(CH ₃) ₃	
0.00	bs, 3H; O-Si(($\text{C}\underline{\text{H}}_3$) ₂)-C(CH ₃) ₃	

¹³C-NMR (CDCl₃, 23.7°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 170.5	CH ₂ - $\text{C}\underline{=}\text{O-N}$	
155.8, 155.5	N- $\text{C}\underline{\text{O}}\text{O-C(CH}_3)_3$	
147.6, 147.3, 147.1	C-4', C-4''	
144.8, 144.2	C-1'	
142.4, 142.0	C-1''	
140.8, 138.8	$\text{C}\underline{=}\text{CH}$	
130.2, 130.1	C-2' / C-6' *)	
128.5	C-2'' / C-6'' *)	
126.8	C-3' / C-5' *)	
124.3, 123.9, 123.8	C-3'' / C-5'' *)	

5-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-3-[[[(4-nitro-benzyl)-phenylacetyl-amino]-methyl]-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (154b)



According to the general procedure (method E), employment of **153** (1.015 g, 2.0 mmol, 1.0 equiv.) with phenyl acetic acid (0.327 g, 2.4 mmol, 1.2 equiv.) furnished 1.153 g (92%) of **154b** as a colorless oil after column chromatography (*t*-BuOMe/hexanes: 4:1).

¹H-NMR (CDCl₃, 20.9°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) = 8.14	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3' / H-5'
8.09	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3' / H-5'
7.36 – 7.22	m, 5H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-2' / H-6', H-3'' / H-5'', H-4''
7.18	bt, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-2'' / H-6''
5.71	bs, 0.5H; <u>CH</u> =C
5.64	bs, 0.5H; <u>CH</u> =C
4.93 – 4.47	m, 2H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- <u>CH</u> ₂
4.17 – 3.71	m, 5H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C, <u>CH</u> ₂ -OTBDMS, Phenyl- <u>CH</u> ₂
3.66	s, 1H; Phenyl- <u>CH</u> ₂
3.60 – 3.28	m, 2H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- <u>CH</u> ₂
3.28 – 2.81	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
2.33 – 2.12	m, 1H; N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -C=CH
2.08 – 1.76	m, 2H; N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C=CH
1.39	bt, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.87	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.86	bs, 4.5H; O-Si((CH ₃) ₂)-C(<u>CH</u> ₃) ₃
0.02	bs, 3H; O-Si(<u>CH</u> ₃) ₂ -C(CH ₃) ₃
0.01	bs, 3H; O-Si(<u>CH</u> ₃) ₂ -C(CH ₃) ₃

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 22.2°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ_{C} (ppm) = 171.9, 171.7	$\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{=O-N}$
155.6, 155.5, 155.0, 154.8	$\text{N-}\underline{\text{C}}\text{OO-C(CH}_3)_3$
147.4, 147.2	$\text{C-4}'$
145.2, 144.7, 144.5, 144.0	$\text{C-1}'$
140.7	$\underline{\text{C}}\text{=CH}$
139.3, 138.9	$\text{C-1}''$
134.6, 134.5, 134.32, 134.30	$\text{C-4}''$
128.9, 128.8	$\text{C-2}'/\text{C-6}' \quad *)$
128.64, 128.55, 128.4	$\text{C-2}''/\text{C-6}'' \quad *)$
127.2, 127.1, 127.0, 126.9	$\text{C-3}''/\text{C-5}''$
124.2, 124.1, 123.7	$\text{C-3}'/\text{C-5}'$
122.9, 122.3, 122.1, 121.6	$\text{C=}\underline{\text{C}}\text{H}$
79.9, 79.5	$\text{N-COO-}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$
67.8, 67.6, 67.4, 67.1	$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-OTBDMS}$
51.3, 51.1, 50.8, 50.6	$p\text{-O}_2\text{N-Phenyl-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N}$
50.3, 50.1, 49.2, 49.1	$\text{CH}_2\text{-CH-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N} \quad *)$
47.9, 47.7	$\text{N-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}$
46.7, 46.1, 46.0	$\text{N-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH=C} \quad *)$
41.48, 41.46, 41.5, 41.3, 40.9	$\text{Phenyl-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-C=O}$
36.5, 36.0, 35.3	$\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H-CH}_2\text{-N}$
30.8, 30.2, 29.9, 29.6	$\text{CH-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-C}$
28.4	$\text{N-COO-C(}\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$
25.9	$\text{O-Si}((\text{CH}_3)_2)\text{-C(}\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$
18.3	$\text{O-Si}((\text{CH}_3)_2)\text{-}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$
-5.4	$\text{O-Si(}\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{)-C(CH}_3)_3$

MS (ES^+):

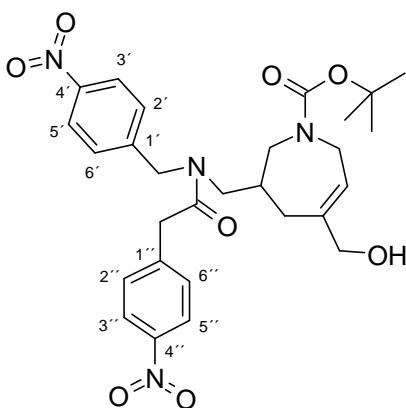
m/z (%) = 624 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 1264 (14, $[2\text{M}+\text{NH}_4]^+$)

HRMS (ES^+):

m/z	calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_6\text{Si}$: 624.346890
	found	: 624.349690

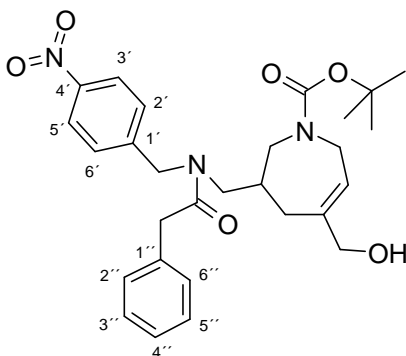
EA:	$C_{34}H_{49}N_3O_6Si$	(623.87 g/mol)
calcd.:	C: 65.46 H: 7.92 N: 6.74	
found:	C: 65.40 H: 7.99 N: 6.84	

5-Hydroxymethyl-3-(((4-nitro-benzyl)-[2-(4-nitro-phenyl)-acetyl]-amino)-methyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (155a)



Following the general procedure (method D), use of **154a** (1.016 g, 1.50 mmol, 1.0 equiv.) the combined organic layers were washed with brine, dried over $MgSO_4$, filtered, concentrated under reduced pressure and used without further purification.

5-Hydroxymethyl-3-[[(4-nitro-benzyl)-phenylacetyl-amino]-methyl]-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (155b)



Following the general procedure (method D), use of **154b** (1.010 g, 1.62 mmol, 1.0 equiv.) rendered 0.711 g (86%) of **155b** as a colorless oil after column chromatography (DCM/MeOH: 98:2).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio:1:1):

δ _H (ppm) = 8.21	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3' / H-5'
8.15	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; H-3' / H-5'
7.45	t, 2H, ³ <i>J</i> = 8.5 Hz; H-2' / H-6'
7.34 – 7.16	m, 5H; H-3'' / H-5'', H-4'', H-2'' / H-6''
5.64	bs, 1H; <u>C</u> H=C
4.90 – 4.58	m, 2H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- <u>C</u> H ₂
4.77	t, 1H, ³ <i>J</i> = 5.4 Hz; O <u>H</u>
4.01 – 3.44	m, 3H; <u>C</u> H ₂ OH, N- <u>C</u> H ₂ -CH=C
3.73 – 3.64	m, 3H; N- <u>C</u> H ₂ -CH=C, Phenyl- <u>C</u> H ₂
3.56 – 3.45	m, 1H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- <u>C</u> H ₂
3.27 – 3.18	m, 1H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- <u>C</u> H ₂
3.26 – 2.97	m, 2H; N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
2.11	m, 1H; N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂ -C=CH
2.02 – 1.88	m, 2H; N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂ -C=CH
1.37	bs, 4.5H; N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃
1.32	bs, 4.5H; N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 22.9°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 172.2, 172.0	CH ₂ - <u>C</u> =O-N
155.5, 155.3, 155.0, 154.9	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
147.6, 147.4, 147.23, 147.15	C-4'
145.2, 144.8, 144.2, 143.8	C-1'
140.3	<u>C</u> =CH
139.6, 139.4	C-1''
134.3, 134.2	C-4''
128.9, 128.8	C-2'' / C-6''
128.61, 128.55, 128.4	C-2' / C-6'
127.2, 127.1, 126.9	C-3'' / C-5''
124.2, 124.1, 123.7	C-3' / C-5'

123.6, 123.4	C= <u>C</u> H
80.1, 80.0, 79.7	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃
68.3, 68.0, 67.7	<u>C</u> H ₂ -OH
51.1, 51.0, 50.7	N- <u>C</u> H ₂ -CH
50.4, 50.3, 49.5, 49.2	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl- <u>C</u> H ₂ -N
48.6, 48.0	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
46.7, 46.6, 46.0, 45.9	CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂ -N *)
41.5, 41.3, 41.0, 40.9	Phenyl- <u>C</u> H ₂ -C=O
36.5, 36.1, 35.4	CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂ -N
30.3, 30.12, 30.05, 29.8	CH- <u>C</u> H ₂ -C
28.4	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

MS (ES+):

m/z (%) = 510 (84, [M+H]⁺), 1036 (21, [2M+NH₄]⁺)

HRMS (ES+):

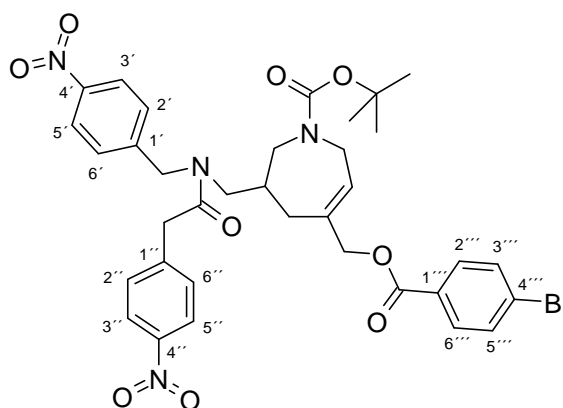
m/z	calculated for C ₂₈ H ₃₆ N ₃ O ₆	: 510.260411
	found	: 510.263329

EA: C₂₈H₃₅N₃O₆*0.5H₂O (518.62 g/mol)

calcd.: C: 64.85 H: 7.00 N: 8.10

found: C: 64.77 H: 7.00 N: 8.17

5-(4-Bromo-benzoyloxymethyl)-3-(((4-nitro-benzyl)-[2-(4-nitro-phenyl)-acetyl]-amino)-methyl)-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (156a)



According to the general procedure (method E), employment of **155a** (0.711 g, 1.28 mmol, 1.0 equiv.) with 4-bromobenzoic acid (0.362 g, 1.80 mmol, 1.4 equiv.) furnished 0.500 g (53%) of **156a** as a colorless oil after column chromatography (*t*-BuOMe/hexanes: 4:1).

¹H-NMR (CDCl₃, 20.8°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 7:3):

δ _H (ppm) = 8.28 – 8.08	m, 4H; H-3'/H-5', H-3''/H-5''
7.91 – 7.83	m, 2H; H-2'''/H-6'''
7.62 – 7.51	m, 2H; H-3'''/H-5'''
7.48 – 7.23	m, 4H; H-2'/H-6', H-2''/H-6''
5.87	bs, 0.7H; <u>C</u> H=C
5.79	bs, 0.3H; <u>C</u> H=C
4.97 – 4.54	m, 4H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- <u>C</u> H ₂ -N, <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>C</u> H ₂
4.27 – 3.65	m, 4H; N- <u>C</u> H ₂ -CH=C, N-C=O- <u>C</u> H ₂
3.61 – 3.25	m, 4H; N- <u>C</u> H ₂ -CH-CH ₂ -C=CH, <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- <u>C</u> H ₂ -CH
2.40 – 2.00	m, 3H; N-CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂ , N-CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂ -C=CH
1.47, 1.43, 1.41	3 x bs, 9H; N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 22.9°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 170.5	CH ₂ - <u>C</u> =O-N
165.4	<i>p</i> -Br-Phenyl- <u>C</u> =O
155.8, 155.4	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
147.6, 147.4, 147.1	C-4', C-4''
144.6, 144.0	C-1'
142.2, 141.9	C-1''
136.0, 134.6, 134.3	<u>C</u> =CH
131.9, 131.8	C-2'''/C-6''' *)
131.1, 131.0	C-3'''/C-5''' *)
130.2, 130.1	C-2''/C-6'' *)
129.0, 128.8	C-1'''
128.6, 128.5, 128.4	C-2'/C-6'
127.5, 127.3	C-4'''
126.7	C-3'/C-5'
124.5, 124.4	C-3''/C-5''

123.9, 123.8	C= <u>C</u> H
80.4, 80.0	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃
69.7, 69.5	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO-C <u>C</u> H ₂
51.5, 51.4	N-C <u>C</u> H ₂ -CH *)
49.9	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl-C <u>C</u> H ₂ -N *)
48.3	CH ₂ -CH-C <u>C</u> H ₂ -N *)
47.2, 46.3	N-C <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
40.2, 39.9	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl-C <u>C</u> H ₂ -C=O
36.8, 35.5	CH ₂ -C <u>C</u> H-CH ₂ -N
31.3, 30.6, 29.8	CH-C <u>C</u> H ₂ -C
28.4	N-COO-C(<u>C</u> H ₃) ₃

MS (ES+):

m/z (%) = 739 (45, [M+H]⁺)

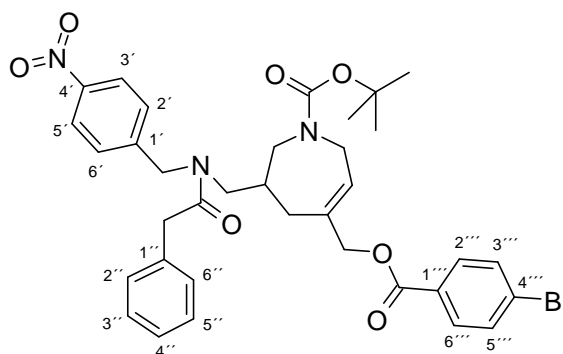
HRMS (ES+):

m/z calculated for C₃₅H₃₈N₄O₉Br : 737.182215
 found : 737.179501

EA: C₃₅H₃₇BrN₄O₉ (737.61 g/mol)

calcd.: C: 56.99 H: 5.06 N: 7.60
 found: C: 56.68 H: 5.19 N: 7.37

5-(4-Bromo-benzoyloxymethyl)-3-[[[(4-nitro-benzyl)-phenylacetyl-amino]-methyl]-2,3,4,7-tetrahydro-azepine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (156b)



According to the general procedure (method E), employment of **155b** (0.561 g, 1.10 mmol, 1.0 equiv.) with 4-bromobenzoic acid (0.265 g, 1.32 mmol, 1.2 equiv.) furnished 0.400 g (53%) of **156b** as a colorless oil after column chromatography (*t*-BuOMe/hexanes: 2:1).

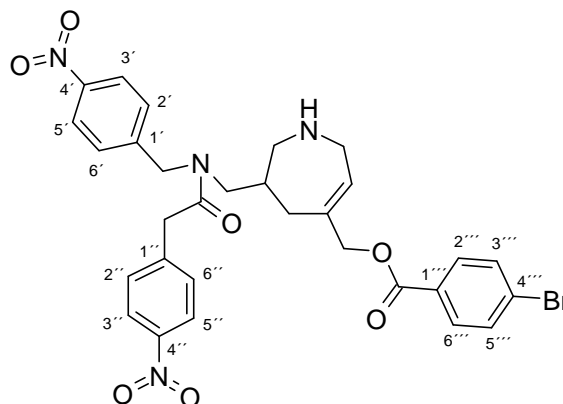
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) = 8.19	d, 1H, ³ <i>J</i> = 7.5 Hz; H-3' / H-5'
8.12	d, 1H, ³ <i>J</i> = 7.5 Hz; H-3' / H-5'
7.86	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; H-2''' / H-6'''
7.83	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; H-2''' / H-6'''
7.70	t, 2H, ³ <i>J</i> = 8.7 Hz; H-3''' / H-5'''
7.41	t, 2H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-2' / H-6'
7.33 – 7.11	m, 5H; H-3'' / H-5'', H-4'', H-2'' / H-6''
5.95 – 5.82	m, 1H; <u>CH</u> =C
4.80	bd, 1H; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂
4.63	bs, 2H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- <u>CH</u> ₂
4.61	bs, 1H; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂
4.03 – 3.72	m, 3H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C, Phenyl- <u>CH</u> ₂
3.72 – 3.30	m, 4H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C, <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- <u>CH</u> ₂ , N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
3.25 – 3.04	m, 1H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH
2.30 – 2.00	m, 3H; N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -C=CH, N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C=CH
1.36	bs, 9H; N-COO-C(<u>CH</u> ₃) ₃

¹³C-NMR (CDCl₃, 22.9°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 172.0, 171.9	CH ₂ - <u>C</u> =O-N
165.41, 165.35	<i>p</i> -Br-Phenyl- <u>C</u> =O
155.6, 155.4	N- <u>C</u> OO-C(CH ₃) ₃
147.4, 147.2	C-4'
144.3	C-1'
136.0	<u>C</u> =CH
134.8, 134.5	C-1''
134.4, 134.2	C-4''
131.9, 131.8	C-3''' / C-5'''
131.1, 131.0	C-2''' / C-6'''

4-Bromo-benzoic acid 6-((4-nitro-benzyl)-[2-(4-nitro-phenyl)-acetyl]-amino)-methyl)-2,5,6,7-tetrahydro-1H-azepin-4-ylmethyl ester (157a)



According to the general procedure (method B), employment of **156a** (0.400 g, 0.54 mmol) gave rise to 0.343 g (94%) of **157a** as a colorless solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ_{H} (ppm) = 8.21	bd, 1H, $^3J = 8.6$ Hz; H-3' / H-5'	
8.14	bd, 2H, $^3J = 8.0$ Hz; H-3'' / H-5''	
8.10	dt, 1H, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-3' / H-5'	
7.86	dt, 1H, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-2''' / H-6'''	
7.78	dt, 1H, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-2''' / H-6'''	
7.68	dt, 1H, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-3''' / H-5'''	
7.64	dt, 1H, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz; H-3''' / H-5'''	
7.49	bd, 1H, $^3J = 8.9$ Hz; H-2' / H-6', H-2' / H-6'	
7.45	d, 1H, $^3J = 8.9$ Hz; H-2' / H-6', H-2' / H-6'	
7.43	d, 1H, $^3J = 8.3$ Hz; H-2' / H-6', H-2'' / H-6''	
7.42	d, 1H, $^3J = 8.9$ Hz; H-2' / H-6', H-2'' / H-6''	
5.96	bt, 0.5H, $^3J = 5.1$ Hz; $\text{CH}=\text{C}$	
5.90	bt, 0.5H, $^3J = 5.4$ Hz; $\text{CH}=\text{C}$	
4.89	d, 0.5H, $^2J = 18.6$ Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- CH_2	part A of an AB-system
4.83	d, 0.5H, $^2J = 18.0$ Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- CH_2	part B of an AB-system
4.72 – 4.56	m, 3H; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- CH_2 , <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- CH_2 -N	

4.08	d, 0.5H, $^2J = 17.2$ Hz; N-C=O-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ part A of an AB-system
4.04	d, 0.5H, $^2J = 17.2$ Hz; N-C=O-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ part B of an AB-system
3.88	d, 0.5H, $^2J = 15.8$ Hz; N-C=O-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ part A of an AB-system
3.81	d, 0.5H, $^2J = 16.0$ Hz; N-C=O-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ part B of an AB-system
3.56 – 3.38	m, 2H; N-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -CH=C
3.38 – 3.03	m, 4H; N-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -CH-CH ₂ -C=CH, <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -CH
2.96 – 2.86	m, 1H; N-CH ₂ -CH $\underline{\text{H}}$ -CH ₂
2.38 – 2.18	m, 3H; N-CH ₂ -CH-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -C=CH, NH $\underline{\text{H}}$

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 21.8°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 171.1, 170.5	CH ₂ -C $\underline{\text{=O}}$ -N
164.8	<i>p</i> -Br-Phenyl-C $\underline{\text{=O}}$
146.9, 146.7	C-4''
146.4, 146.3	C-4'
145.6	C-1'
144.3	C-1''
143.9	C $\underline{\text{=CH}}$
132.12, 132.07	C-2'''/ C-6''' *)
131.3, 131.2	C-3'''/ C-5''' *)
131.1, 131.0	C-2''/ C-6''
128.8	C-2'/ C-6'
128.5	C-1'''
127.8	C-3''/ C-5''
127.7	C-4'''
124.0, 123.7	C-3'/ C-5'
123.34, 123.28	C=C $\underline{\text{H}}$
69.4, 69.1	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO-CH $\underline{\text{H}}$ ₂
52.1, 51.9	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -N
50.7	CH ₂ -CH-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -N
50.1	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl-CH ₂ -N-CH $\underline{\text{H}}$ ₂
48.4, 48.3	N-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -CH=C
44.6	<i>p</i> -O ₂ N-Phenyl-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -C=O
35.1, 33.9	CH ₂ -CH $\underline{\text{H}}$ -CH ₂ -N
31.8, 31.6	CH-CH $\underline{\text{H}}$ ₂ -C

MS (ES⁺):

m/z (%) = 639 (100, [M+H]⁺)

HRMS (ES⁺):

m/z calculated for C₃₀H₃₀N₄O₇Br : 637.129786
 found : 637.129635

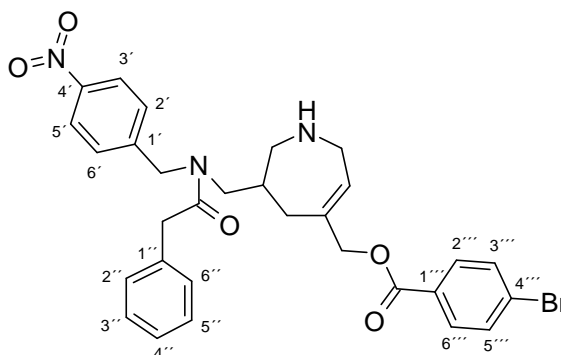
EA: C₃₀H₂₉BrN₄O₇*1.5H₂O (664.51 g/mol)

calcd.: C: 54.23 H: 4.85 N: 8.43

found: C: 54.22 H: 4.76 N: 8.38

Melting point: 98°C

**4-Bromo-benzoic acid 6-[[[(4-nitro-benzyl)-phenylacetyl-amino]-methyl]-
2,5,6,7-tetrahydro-1H-azepin-4-ylmethyl ester (157b)**



According to the general procedure (method B), employment of **156b** (0.117 g, 0.210 mmol, 1.0 equiv.) gave rise to 0.099 g (96%) of **157b** as a colorless solid.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 1:1):

δ _H (ppm) = 8.19	d, 1H, ³ J = 8.6 Hz; H-3' / H-5'
8.10	d, 1H, ³ J = 8.6 Hz; H-3' / H-5'
7.86	d, 1H, ³ J = 8.6 Hz; H-3''' / H-5'''
7.78	d, 1H, ³ J = 8.6 Hz; H-3''' / H-5'''
7.70	d, 1H, ³ J = 8.3 Hz; H-2''' / H-6'''

7.65	d, 1H, $^3J = 8.3$ Hz; H-2'''/ H-6'''	
7.39	d, 1H, $^3J = 8.6$ Hz; H-2'/ H-6'	
7.38	d, 1H, $^3J = 8.6$ Hz; H-2'/ H-6'	
7.31 – 7.11	m, 5H; H-3''/ H-5'', H-4'', H-2''/ H-6''	
5.95	t, 0.5H, $^3J = 5.4$ Hz; $\underline{\text{CH}}=\text{C}$	
5.93	bs, 1H; $\underline{\text{NH}}$ partially exchanged	
5.90	t, 0.5H, $^3J = 5.4$ Hz; $\underline{\text{CH}}=\text{C}$	
4.82	d, 0.5H, $^2J = 18.0$ Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- $\underline{\text{CH}}_2$	part A of an AB-system
4.77	d, 0.5H, $^2J = 18.3$ Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- $\underline{\text{CH}}_2$	part B of an AB-system
4.68	d, 1H, $^2J = 18.3$ Hz; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- $\underline{\text{CH}}_2$	
4.64	d, 0.5H, $^2J = 15.8$ Hz; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
4.61	d, 0.5H, $^2J = 12.3$ Hz; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
4.59	d, 0.5H, $^2J = 12.3$ Hz; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
4.56	d, 0.5H, $^2J = 16.0$ Hz; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
3.93	d, 0.5H, $^2J = 15.5$ Hz; Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
3.80	d, 0.5H, $^2J = 15.5$ Hz; Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
3.65	d, 0.5H, $^2J = 15.2$ Hz; Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
3.61	d, 0.5H, $^2J = 15.5$ Hz; Phenyl- $\underline{\text{CH}}_2$	
3.52 – 3.25	m, 3H; N- $\underline{\text{CH}}_2$ -CH=C, <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- $\underline{\text{CH}}_2$	
3.19 – 3.08	m, 1H; <i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- $\underline{\text{CH}}_2$	
3.06 – 2.96	m, 1H; N- $\underline{\text{CH}}_2$ -CH-CH ₂ -C=CH	
2.88 – 2.77	m, 1H; N- $\underline{\text{CH}}_2$ -CH-CH ₂ -C=CH	
2.30 – 2.20	m, 2H; N-CH ₂ -CH- $\underline{\text{CH}}_2$ -C=CH	
2.16	bs, 1H; N-CH ₂ - $\underline{\text{CH}}$ -CH ₂ -C=CH	

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 171.7, 171.4	CH ₂ - $\underline{\text{C}}=\text{O}$ -N
164.8	<i>p</i> -Br-Phenyl- $\underline{\text{C}}=\text{O}$
146.8, 146.6	C-4'
146.4, 145.7	C-1'
138.6, 137.2	$\underline{\text{C}}=\text{CH}$
135.9, 135.5	C-1''

132.1, 132.0	C-4''
131.2, 131.1	C-3'''/ C-5'''
129.3, 129.2	C-2'''/ C-6'''
128.9	C-2''/ C-6''
128.4	C-2'/ C-6'
128.3	C-1'''
127.63, 127.56	C-3''/ C-5''
126.5	C-4'''
123.9	C-3'/ C-5'
123.5	C= <u>C</u> H
69.6, 69.3	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>C</u> H ₂
52.4, 52.3	<i>p</i> -NO ₂ -Phenyl- <u>C</u> H ₂ -N
50.6	CH ₂ -CH- <u>C</u> H ₂ -N *)
50.1	<i>p</i> -NO ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- <u>C</u> H ₂
48.1, 47.9	N- <u>C</u> H ₂ -CH=C *)
46.2, 45.2	Phenyl- <u>C</u> H ₂ -C=O
35.6, 34.4	CH ₂ - <u>C</u> H-CH ₂ -N
31.8, 31.6	CH- <u>C</u> H ₂ -C

MS (ES+):

m/z (%) = 594 [Br⁸¹](100, [M+H]⁺)

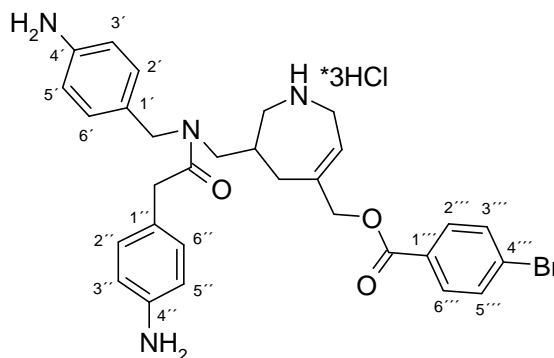
HRMS (ES+):

m/z	calculated for C ₃₀ H ₃₁ N ₃ O ₅ Br	: 592.144708
	found	: 592.143100

EA:	C ₃₀ H ₃₀ BrN ₃ O ₅ *1H ₂ O	(610.50 g/mol)
	calcd.: C: 59.02 H: 5.28 N: 6.88	
	found: C: 59.05 H: 5.32 N: 7.09	

Melting point: 235°C

3-((4-Amino-benzyl)-[2-(4-amino-phenyl)-acetyl]-amino)-methyl)-5-(4-bromo-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepinium tri-hydrochloride (158a)



Following the general procedure (method C), utilization of **156a** (0.304 g, 0.41 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.153 g (61%) of **158a** as a yellow solid after column chromatography (DCM/MeOH: 8:2).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz, rotamers):

δ _H (ppm) = 8.95	bs, 2H; <u>NH</u> ₂ ⁺	partially exchanged
7.91 – 7.86	m, 2H; H-2'''/ H-6'''	
7.74	bd, 2H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3'''/ H-5'''	
6.90 – 6.81	m, 3H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-2'/ H-6', H-2''/ H-6''	
6.77	d, 1H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-2'/ H-6', H-2''/ H-6''	
6.57 – 6.41	m, 4H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3'/ H-5', H-3''/ H-5''	
5.91 – 5.84	m, 1H; <u>CH</u> =C	
5.04	bs, 1.5H; <u>NH</u> ₃ ⁺	partially exchanged
4.94	bs, 2H; <u>NH</u> ₃ ⁺	partially exchanged
4.69	bs, 2H; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂	
4.34 + 4.32	2 x bs, 2H; <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl- <u>CH</u> ₂ -N	*)
4.11	bs, 0.5H; <u>NH</u> ₃ ⁺	*)
3.78 – 3.58	m, 2H; N- <u>CH</u> ₂ -CH=C	
3.51	psd, 2H; <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl- <u>CH</u> ₂ -C=O	
3.22 – 3.00	m, 4H; N- <u>CH</u> ₂ -CH-CH ₂ -C=CH, O=C-N- <u>CH</u> ₂ -CH	
3.00 – 2.82	m, 1H; N-CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂	
2.42 – 1.99	m, 3H; N-CH ₂ -CH- <u>CH</u> ₂ -C=CH, <u>NH</u> ₃ ⁺	

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 30.0°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ_{C} (ppm) = 172.4	$\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}=\text{O-N}$
164.7	<i>p</i> -Br-Phenyl- $\underline{\text{C}}=\text{O}$
148.2, 147.8	C-4'
147.2, 147.1	C-4''
141.2	$\underline{\text{C}}=\text{CH}$
132.3, 132.0	C-2'''/ C-6'''
131.4, 131.2	C-3'''/ C-5'''
129.5, 129.3	C-2''/ C-6''
128.8	C-1'''
127.7, 127.6	C-2'/ C-6'
127.2	C-1'
124.5, 123.7	C-4'''
123.6	C-1''
122.4	$\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$
114.7, 114.3	C-3'/ C-5'
114.0, 113.6	C-3''/ C-5''
79.4, 79.2	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$
50.8	<i>p</i> -NH ₂ -Phenyl- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N}$
50.6	$\text{CH}_2\text{-CH-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N}$
47.1	<i>p</i> -NH ₂ -Phenyl-CH ₂ -N- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$
46.8	N- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH=C}$
43.2	<i>p</i> -NH ₂ -Phenyl- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-C=O}$
32.7	$\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H-CH}_2\text{-N}$
31.5	$\text{CH-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-C}$

MS (ES+):

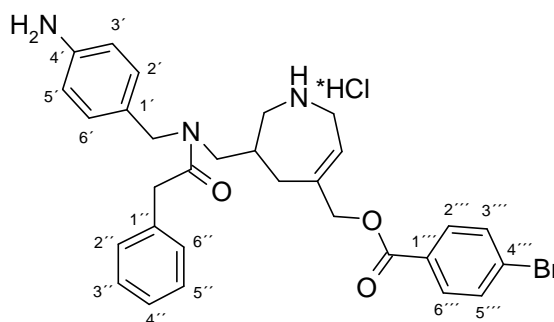
m/z (%) = 577 (100, $[M+H]^+$)

HRMS (ES+):

m/z	calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{BrN}_4\text{O}_3$: 577.181427
	found	: 577.180855

Melting point: 250°C

3-[[[(4-Amino-benzyl)-phenylacetyl-amino]-methyl]-5-(4-bromo-benzoyloxymethyl)-2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepinium chloride (158b)



Following the general procedure (method C), utilization of **156b** (0.212 g, 0.36 mmol, 1.0 equiv.) afforded 0.084 g (47%) of **158b** as a brownish solid after column chromatography (DCM/MeOH: 7:3).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 500.16 MHz, rotamers, ratio 2.5:1):

δ_{H} (ppm) = 8.00	bs, 2H; <u>NH</u> ₂ ⁺ partially exchanged
7.88	d, 1.43H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-2'''/ H-6'''
7.85	d, 0.57H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-2'''/ H-6'''
7.73	d, 1.43H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3'''/ H-5'''
7.71	d, 0.57H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-3'''/ H-5'''
7.31 – 7.15	m, 5H; H-3''/ H-5'', H-4'', H-2''/ H-6''
6.82	d, 0.57H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-2'/ H-6'
6.80	d, 1.43H, ³ <i>J</i> = 8.6 Hz; H-2'/ H-6'
6.53	d, 1.43H, ³ <i>J</i> = 8.3 Hz; H-3'/ H-5'
6.45	d, 0.57H, ³ <i>J</i> = 8.0 Hz; H-3'/ H-5'
5.91	t, 0.28H, ³ <i>J</i> = 5.7 Hz; <u>CH</u> =C
5.88	t, 0.72H, ³ <i>J</i> = 5.7 Hz; <u>CH</u> =C
5.04	bs, 1.57H; Phenyl-N <u>H</u> ₂
4.94	bs, 0.43H; Phenyl-N <u>H</u> ₂
4.67	bs, 1.57H; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂
4.66	bs, 0.43H; <i>p</i> -Br-Phenyl-COO- <u>CH</u> ₂
4.39	bs, 1.57H; <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl- <u>CH</u> ₂

4.34	d, 0.22H, $^2J = 14.9$ Hz; <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl-CH ₂	part A of an AB-system
4.30	d, 0.22H, $^2J = 14.3$ Hz; <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl-CH ₂	part B of an AB-system
3.79 – 3.65	m, 2H; N-CH ₂ -CH=C	
3.61 – 3.43	m, 2H; Phenyl-CH ₂	
3.39 – 3.23	m, 1H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C=CH	
3.21 – 3.06	m, 2H; <i>p</i> -NH ₂ -Phenyl-CH ₂ -N-CH ₂	
2.92 – 2.83	m, 1H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C=CH	
2.34 – 2.10	m, 3H; N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C=CH, N-CH ₂ -CH-CH ₂ -C=CH	

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 30.0°C, 125.77 MHz, COM, rotamers):

δ _C (ppm) = 171.6, 170.8	CH ₂ -C=O-N
164.8	<i>p</i> -Br-Phenyl-C=O
148.2	C-4'
140.6	C-1''
136.6, 136.1	C=CH
136.5, 135.9	C-1'''
132.2, 132.0	C-4''
131.4, 131.2	C-3'''/ C-5'''
129.3, 129.0	C-2'''/ C-6'''
128.8, 128.7	C-2'/ C-6'
128.5, 128.4	C-2''/ C-6''
128.3, 128.1	C-1'
127.7, 127.6	C-3''/ C-5''
126.7, 126.4	C-4'''
123.6	C=CH
114.3, 113.9	C-3'/ C-5'
69.0, 68.7	<i>p</i> -Br-Phenyl-COO-CH ₂
51.5	<i>p</i> -NH ₂ -Phenyl-CH ₂ -N-CH ₂
50.8	CH ₂ -CH-CH ₂ -N
49.1, 48.9	<i>p</i> -NH ₂ -Phenyl-CH ₂ -N-CH ₂
47.5, 47.2	N-CH ₂ -CH=C
43.9	Phenyl-CH ₂ -C=O

33.2	CH ₂ - <u>CH</u> -CH ₂ -N
31.6	CH- <u>CH</u> ₂ -C

MS (ES+):

m/z (%) = 564 (100, [M+H]⁺)

HRMS (ES+):

m/z	calculated for C ₃₀ H ₃₃ BrN ₃ O ₃	: 562.170528
	found	: 562.169468

EA: C₃₀H₃₃BrN₃O₃Cl (598.97 g/mol)

calcd.:	C: 60.16	H: 5.55	N: 7.02
found:	C: 60.62	H: 5.61	N: 7.14

Melting point: 53°C

8. Literaturverzeichnis

1. WHO, *World Malaria Report* **2008**.
2. Snow, R.W., Craig, M. et al., *Bull. WHO* **1999**, 77, 624-640.
3. Laurent, C., Bourgeois, A. et al., *Emerg. Inf. Dis.* **2004**, 10, 1953-1956.
4. Wellem, T., Plowe, C., *J. Infect. Dis.* **2001**, 184, 770-776.
5. Wongsrichanalai, Ch., Pickard, A.L. et al., *The Lancet Infect. Dis.* **2002**, 2, 209- 218.
6. Greenwood, B., Mutabingwa, T., *Nature* **2002**, 415, 670-672.
7. Stone, R., *Science* **1995**, 267, 957-958.
8. <http://www.rollbackmalaria.org/>; **2009**.
9. Khan, S., Waters, A.P., *Trends in Parasitology* **2004**, 20, 575-580.
10. Wiesner, J., Schlitzer, M., *Angew. Chemie.* **2003**, 115, 5432-5451.
11. Parasite Image Library:
http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/ImageLibrary/Malaria_il.htm; **2009**.
12. The Peptidase Database: <http://merops.sanger.ac.uk/>; **2009**.
13. Rawlings, N.D. et al., *MEROPS: the peptidase database. Nucleic Acids Res.* **2008**, 36, D320-D325.
14. Malaria parasite metabolic pathways: <http://sites.huji.ac.il/malaria/>; **2009**.
15. Francis, S.E., Sullivan, D.J.J. et al., *Annu. Rev. Microbiol.* **1997**, 51, 97-123.
16. Francis, S.E., Gluzman, I.Y. et al., *Eur. Mol. Biol. Organiz. J.* **1994**, 13, 306-317.
17. Gluzman, I.Y., Francis, S.E. et al., *J. Clin. Invest.* **1994**, 93, 1602-1608.
18. Dame, J.B., Reddy, C.A. et al.; *Mol. Biochem. Parasitol.* **1994**, 64, 177-190.
19. Banerjee, R., Liu, Y. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 990-995.
20. Joachimiak, M.P., Chang, C. et al., *Mol. Med.* **2001**, 7, 698-710.
21. Sijwali, P.S., Shenai, B.R. et al., *Biochem. J.* **2001**, 360, 481-489.
22. Kolakovich, K.E., Duffin, K.L. et al., *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 32411-32417.
23. Klemba, M., Gluzman, I., *J. Biol. Chem.* **2004**, 41, 43000-43007.
24. Ersmark, K., Samuelsson, B. et al., *Med. Res. Rev.* **2006**, 26, 626-666.
25. Semenov, A., Olson, J.E. et al., *Antimicrob. Agents and Chemother.* **1998**, 42, 2254-2258.
26. Stryer, L., *Biochemie*, Spektrum Verlag **1995**, 4. Auflage, 239 ff.
27. Schechter, I., Berger, A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1967**, 27, 157.
28. Dunn, B.M., *Chem. Rev.* **2002**, 102, 4431.
29. Delano, W.L., *The Pymol Mol. Graphics Syst.*, DeLano Scientific, San Carlos, CA (USA) **2002**, <http://pymol.sourceforge.net/>

30. Rich, D.H., *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 263-273.
31. Cooper, J.B., *Curr. Drug Targets* **2002**, 3, 155-173.
32. Silva, A.M., Lee, A.Y. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 10034-10039.
33. Binkert, C., Frigero, M. et al., *ChemBioChem* **2006**, 7, 181-186.
34. Oefner, C., Binggeli, A. et al., *Chem. Biol.* **1999**, 6, 127-131.
35. Binggeli, A., Breu, V. et al., *World (PCT) Patent* **1996**, WO9709311-A1.
36. Güller, R., Binggeli, A. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1403-1408.
37. Vieira, E., Binggeli, A., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1397-1402.
38. Boss, C., Richard-Bildstein, S. et al., *Curr. Med. Chem.* **2003**, 10, (11), 883-907.
39. Specker, E., Böttcher, J. et al., *ChemMedChem* **2006**, 1, 106-117.
40. Specker, E., Böttcher, J. et al., *Angew. Chemie Intern. Edt.* **2005**, 44, 3140-3144.
41. Blum, A. et al., *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2078-2087.
42. Böttcher, J. et al., *ChemMedChem* **2008**, 3, 1337-1344.
43. Carcache, D.A. et al., *ChemBioChem* **2002**, 3, 1137-1141.
44. Carcache, D.A. et al., *Helv. Chim. Acta* **2003**, 86, 2173-2191.
45. Hof, F., Schütz, A., *Angew. Chemie Intern. Edt.* **2006**, 45, 2138-2141.
46. Prade, L., Jones, A.F., et al. *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 23837-23843.
47. Corminboeuf, O., Dunet, G., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 6194-6199.
48. Asojo, O.A. et al., *Acta Crystallogr. Sect D: Biol. Crystallogr.* **2002**, 58, 2001-2008.
49. Asojo, O.A. et al., *J. Mol. Biol.* **2003**, 327, 173-181.
50. Boss, C. et al., *ChemMedChem* **2006**, 1, 1341-1345.
51. Bursavich, M.G. et al., *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 541-558.
52. Ersmark, K. et al., *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 110-122.
53. Ersmark, K. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3723-3733.
54. Weik, S. et al., *ChemMedChem* **2006**, 1, 445-457.
55. Ersmark, K. et al., *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6090-6106.
56. Asojo, O.A., Gulnik, S.V., *J. Mol. Biol.* **2003**, 327, 173-181.
57. Brass, S. et al., *Tetrahedron* **2006**, 62, 1777-1786.
58. Brass, S., Chan, N.-S. et al., *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 5406-5422.
59. Price, K.E., Broadwater, S.J. et al., *Org. Lett.* **2005**, 7, 147-150.
60. Price, K.E., Broadwater, S.J. et al., *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 3980-3987.
61. Appel, R., *Angew. Chemie Intern. Edt.* **1975**, 12, 801-811.
62. Sundberg, R.J., Pearce, B.C. et al., *J. Heterocycl. Chem.* **1986**, 23, 537-539.
63. Grubbs, R.H., Chang, S., *Tetrahedron* **1998**, 54, 4413-4450.

64. Fürstner, A., *Angew. Chemie Intern. Edt.* **2000**, 39, 3012-3043.
65. Grubbs, R.H., *Tetrahedron* **2004**, 60, 7117-7140.
66. Blum, A. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 8574-8586.
67. Die Ergebnisse dieses Kapitels wurden bereits publiziert: Luksch, T.*, Chan, N.-S.* et al., *ChemMedChem* **2008**, 3, 1323-1336.
68. Rarey, M., Lengauer, T., *Perspect. Drug Discov. Des.* **2000**, 20, 63-81.
69. Schmitt, S., Kuhn, D., Klebe, G., *J. Mol. Biol.* **2002**, 323, 387-406.
70. Kuhn, D. et al., *J. Mol. Biol.* **2006**, 359, 1023-1044.
71. Gerber, P. R. et al., *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1995**, 9, 251-268.
72. Fujinaga, M., Chernaia, M.M., *Protein Sci.* **1995**, 4, 960.
73. Murtagh, J.E. et al., *Chem. Commun.* **2005**, 227-229.
74. Kim, H.M. et al., *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 2737-2741.
75. Kim, H.M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, Lett. 17, 6234-6238.
76. Esteban, J. et al., *Org. Lett.* **2008**, Vol. 10, No.1, 65-58.
77. Kim, H.M. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 4068-4070.
78. Kasuga, J. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 5177-5190.
79. Wu, Z.-Q. et al., *Org. Lett.* **2004**, Vol.6, No. 2, 229-232.
80. Xin, Z. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1887-1890.
81. Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, Vol. 110, No. 4.
82. Thom, C. et al., *P. Synthesis* **1992**, 582.
83. Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, Vol. 121, No. 33.
84. Molteni, M. et al., *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 589-593.
85. Yamanaka, T. et al., *Synlett* **2005**, No. 4, 631-634.
86. Shi, Z.-D. et al., *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 788-791.
87. Evans, D.A. et al., *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1958.
88. Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9434.
89. Evans D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1737-1739.
90. Koch S.S.C. et al., *J. Org. Chem.* **1993**, Vol. 58, No. 10.
91. Robertson, J. et al., *Org. Lett.* **2004**, Vol. 6, No. 21, 3857-3859.
92. Crimmins, M.T. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1371-1378.
93. Schmauder, A. et al., *Tetrahedron* **2008**, 64, 6263-6269.
94. Greene, T.W., Wuts, P.G.M., *Protect. Groups in Org. Synth.* **1999**, 3, 424-425.
95. Isidro-Llobet, A., Guasch-Camell, J. et al., *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3031-3039.
96. Guibe-Jampel, E., Waskelman, M., *Synth. Commun.* **1982**, 12(3), 219-223.

97. Wang et al., *Angew. Chem. Int. Edt.* **2008**, 47, 1119-1122.
98. Fujinaga M., Cherney M.M. et al., *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* **2000** Mar.; 56(Pt 3): 272-9.
99. Cooper J., Foundling S. et al., *Eur. J. Biochem.* **1987** Nov 16;169(1):215-21.
100. Coates, L. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 7235-7237.

9. Anhang

9.1. Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation

„Synthese nicht-peptidischer Plasmepsin II- und IV-Inhibitoren“

selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderer als der von mir ausdrücklich gekennzeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, _____.

(Ort/Datum)

_____.

(Unterschrift mit Vor- und Zuname)

9.2. Veröffentlichungen

Aus der vorliegenden Arbeit sind folgende Publikationen und Posterbeiträge hervorgegangen:

Publikationen:

- Computer-aided design and synthesis of nonpeptidic plasmepsin II and IV inhibitors
T. Luksch*, N.-S. Chan*, S. Brass, C.A. Sotriffer, G. Klebe, and W.E. Diederich
ChemMedChem **2008**, 3, 1323-1336.
- Synthesis of 2,3,4,7-tetrahydro-1*H*-azepines as privileged ligand scaffold for the design of aspartic protease inhibitors via a ring-closing metathesis approach
S. Brass, N.-S. Chan, C. Gerlach, T. Luksch, J. Böttcher, and W.E. Diederich
Journal of Organometallic Chemistry **2006**, 691, 5406-5422.

Poster:

- Synthesis of non-peptidic plasmepsin II and IV inhibitors based on a tetrahydro-1*H*-azepine scaffold
N.-S. Chan, S. Brass, T. Luksch, G. Klebe, and W.E. Diederich
4th Summer School Medicinal Chemistry, Regensburg, September **2008**.
- Synthesis of Substituted Tetrahydro-1*H*-Azepines as privileged ligand scaffolds for the design of aspartic protease inhibitors
N. Chan, S. Brass, T. Luksch, G. Klebe, W.E. Diederich
GDCh/DPhG-Fachgruppentagung, Frontiers in Medicinal Chemistry, Berlin, März **2007**.
- Aspartic Protease Inhibitors based on a 2,3,4,7-Tetrahydro-1*H*-azepine scaffold
N.-S. Chan, S. Brass, J. Böttcher, T. Luksch, G. Klebe, W.E. Diederich
DPhG-Jahrestagung, Marburg, Oktober **2006**.
- Identification of azacycles as privileged ligand scaffolds for the design and synthesis of aspartic protease inhibitors
A. Blum, S. Brass, N.-S. Chan, W.E. Diederich
Abstracts of Papers, 232nd ACS National Meeting, San Francisco, CA, USA, September **2006**.
- Facile synthesis of substituted azepines as putative non-peptidic inhibitors of Plasmepsin II
S. Brass, N.-S. Chan, T. Luksch, G. Klebe and W.E. Diederich
GDCh/DPhG-Fachgruppentagung, Frontiers in Medicinal Chemistry, Frankfurt, März **2006**.

9.3. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all meinen Verwandten, Freunden und Kollegen bedanken, die mich in den Jahren der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Meiner „Doktor-Mutter“ Frau Jun.-Prof. Dr. Wibke E. Diederich danke ich für die hervorragende Betreuung während der gesamten Zeit der Promotion und die interessante Themenstellung. Ich danke ihr für ihre Hilfsbereitschaft sowohl auf beruflicher als auch auf privater Ebene und wünsche ihr viel Erfolg in ihrer Laufbahn als Professorin.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Gerhard Klebe für die Erstellung des Zweitgutachtens und die ausgezeichnete Zusammenarbeit mit dem AK Diederich.

Meinem ehemaligen Laborkollegen und jetzigen Ehemann Dr. Sascha Brass danke ich für die Einarbeitung in das Themengebiet der Azepine. Ich danke ihm in Liebe für seine vollste Unterstützung während der gesamten Zeit und freue mich sehr auf unsere gemeinsame Zukunft.

Ich danke Dr. Torsten Luksch, Helene Krüger und Dr. Jark Böttcher für die experimentelle Bestimmung der Aktivitäten der aus dieser Arbeit hervorgegangen Aspartyl-Protease-Inhibitoren und für die Durchführung des kombinatorischen Dockings.

Tobias Craan danke ich für seine ständige Hilfsbereitschaft bei der Lösung computertechnischer Probleme, für die Durchführung des Dockings und die Visualisierung der Docking-Lösungen.

Ich danke Dr. Andreas Blum für die Einarbeitung in das Praktikum des 1. Semesters und für seine ständige Hilfe bei synthetischen und computertechnischen Problemen.

Frank Sielaff danke ich für die Aufreinigung problematischer Verbindungen und für die Durchführung von Stabilitätstests mittels HPLC. Ich danke ihm ebenfalls für das Korrekturlesen dieser Arbeit, die lustigen Semesterdienste und die vielen Unternehmungen außerhalb des Institutes.

Ich danke Hans-Dieter Gerber für seine ständige Hilfsbereitschaft bei synthetischen Fragen, insbesondere für seine Hilfe bei der Auswertung komplizierter Spektren und für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Steffi Dörr möchte ich für ihre hervorragende Arbeit im Labor danken, d.h. für das selbständige Nachziehen sämtlicher Startmaterialien und für ihr achtsames Auge im Labor. Das Arbeiten mit ihr im Labor hat immer sehr viel Spaß und Freude bereitet.

Unserem ehemaligen Azubi Andreas Schmidt danke ich für seine Hilfe im Labor während seiner Ausbildungszeit und für die sehr gute Zusammenarbeit bei seiner jetzigen Tätigkeit in der Chemikalienausgabe.

Den Auszubildenden Zeynel Can und Thomas Kronenberger danke ich für das Nachziehen von Startmaterialien.

Angela Scholz und Lydia Hartleben möchte ich für ihre administrative Hilfestellung danken.

Ich möchte mich bei den Mitgliedern des AK Diederich, Nina Klee, Kerstin Linde, Philipp Toth und Maren Kuhnert sowie bei allen Mitgliedern des AK Klebe für die sehr gute Zusammenarbeit und für die vielen Aktivitäten außerhalb der Uni bedanken.

Prof. Dr. Torsten Steinmetzer und Prof. Dr. Christoph Sotriffer danke ich für das sehr gute Zusammenarbeiten bei der Betreuung der Studenten des 1. Semesters. Zudem möchte ich mich bei allen ehemaligen und jetzigen Assistenten des 1. Semesters für die nette Arbeitsatmosphäre bedanken.

Den Vertiefungsstudenten Johannes Benner, Frank Sielaff, Diana Weinheimer, Nina Klee, Amir Shahim und Johannes Schulte-Bahrenberg danke ich für ihre sehr gute Arbeit.

Den gesamten Analytischen Abteilungen des Institutes für Pharmazeutische Chemie möchte ich für die sehr gute Zusammenarbeit danken, besonders für die Hilfestellung bei Problemfällen.

Bei meinen Eltern Ellieminati und Kamchan Chan möchte ich mich für ihre vollste Unterstützung während der gesamten Promotionszeit bedanken. Sie haben mich zu dem Studium ermutigt und jeder Zeit zu mir gestanden. Meinem Bruder Jung-Zen, meiner Schwägerin Karo, meinem Neffen Noah und meiner Nichte Olivia danke ich, dass sie mich noch vor dem Zusammenschreiben dieser Arbeit zum Ski-Urlaub eingeladen haben.

Meiner Hündin Sammy möchte ich für ihre täglichen Gänge zum Institut und für ihre Geduld danken. Durch ihre Ruhe und Gelassenheit hat sie sehr viel zur guten Arbeitsatmosphäre beigetragen. Meiner Katze Mancini danke ich für ihre Geduld, alleine zu Hause zu sein, gerade wenn manche Labortage bis spät abends gingen.

9.4. Lebenslauf

12. März 1980	Geboren in Schlüchtern
1986-1990	Grundschule Schlüchtern-Herolz
1990-1999	Ulrich-von-Hutten-Gymnasium, Schlüchtern Allgemeine Hochschulreife
2000-2004	Studium der Pharmazie, Philipps-Universität Marburg
3/2003	Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
10/2004	Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
11/2004 - 4/2005	Erster Teil des Pharmaziepraktikums STADA R&D GmbH, Bad Vilbel Bereich Analytische Entwicklung
5/2005 - 10/2005	Zweiter Teil des Pharmaziepraktikums Engel-Apotheke, Friedberg/Hessen
12/2005	Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
1/2006	Erteilung der Approbation als Apothekerin
seit 11/2005	Dissertation <i>Synthese nicht-peptidischer Plasmepsin II- und IV-Inhibitoren</i> Unter Betreuung von Jun. – Prof. Dr. W. E. Diederich, Institut für Pharmazeutische Chemie, Fachbereich Pharmazie, Philipps-Universität Marburg

